



PATENT
671302-2005

IN THE UNITED STATES PATENT AND TRADEMARK OFFICE

Applicant(s) : Makoto SATO et al
Filed : February 217, 2004
Serial No. : 10/788,793
For : PROTEINS HAVING EFFECTS OF CONTROLLING CELL
MIGRATION AND CELL DEATH
Art Unit : 1614
Examiner : To Be Assigned

745 Fifth Avenue, New York, NY 10151

CERTIFICATE OF MAILING

Thereby certify that this correspondence is being deposited with
the United States Postal Service as first class mail in an envelope
addressed to: **Commissioner for Patents, P.O. Box 1450,**
Alexandria, VA 22313-1450, on August 25, 2004

Thomas J. Kowalski, Reg. No. 32,147

(Name of Applicant, Assignee or Registered Representative)

Thomas J. Kowalski
Signature

August 25, 2004

Date of Signature

CLAIM OF PRIORITY

Commissioner for Patents
P.O. Box 1450
Alexandria, VA 22313-1450

Sir:

Enclosed are certified copies of the priority documents for the above named
application. Applicants hereby claim priority under 35 U.S.C. §§119 and 120 from
International Patent Application No. PCT/JP02/07676, Japanese Application No. JP 2001-
256910.

Acknowledgment of the claim of priority and of the receipt of said certified copies is
requested.

Respectfully submitted,
FROMMER LAWRENCE & HAUG LLP

By:

Thomas J. Kowalski

Thomas J. Kowalski, Esq.

Reg. No. 32,147

T: (212) 588-0800

日 本 国 特 許 庁
JAPAN PATENT OFFICE

別紙添付の書類に記載されている事項は下記の出願書類に記載されている事項と同一であることを証明する。

This is to certify that the annexed is a true copy of the following application as filed with this Office.

出 願 年 月 日 2 0 0 1 年 8 月 2 7 日
Date of Application:

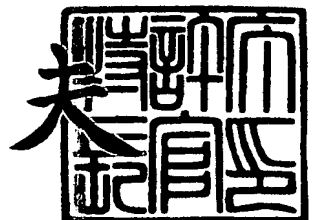
出 願 番 号 特 願 2 0 0 1 - 2 5 6 9 1 0
Application Number:
[ST. 10/C]: [J P 2 0 0 1 - 2 5 6 9 1 0]

出 願 人 科学技術振興事業団
Applicant(s):

2 0 0 4 年 6 月 2 1 日

特許庁長官
Commissioner,
Japan Patent Office

今 井 康 夫



CERTIFIED COPY OF
PRIORITY DOCUMENT

出証番号 出証特 2 0 0 4 - 3 0 3 0 9 8 7

【書類名】 特許願

【整理番号】 A011P40

【提出日】 平成13年 8月27日

【特記事項】 特許法第 3 0 条第 1 項の規定の適用を受けようとする特
許出願

【あて先】 特許庁長官殿

【国際特許分類】 C12N 15/12

【発明者】

 【住所又は居所】 福井県福井市二の宮 4 - 9 - 1 5 - 3 0 1

 【氏名】 佐藤 真

【発明者】

 【住所又は居所】 福井県坂井郡丸岡町新鳴鹿 2 - 1 0 0、C 4 - 5 0 3

 【氏名】 永野 隆

【特許出願人】

 【識別番号】 396020800

 【氏名又は名称】 科学技術振興事業団

 【代表者】 沖村 憲樹

【代理人】

 【識別番号】 100107984

 【弁理士】

 【氏名又は名称】 廣田 雅紀

【手数料の表示】

 【予納台帳番号】 044347

 【納付金額】 21,000円

【提出物件の目録】

 【物件名】 明細書 1

 【物件名】 図面 1

 【物件名】 要約書 1

 【包括委任状番号】 0013099

【プルーフの要否】 要

【書類名】 明細書

【発明の名称】 細胞移動調節及び細胞死調節機能を有するタンパク質

【特許請求の範囲】

【請求項 1】 以下の(a)又は(b)のタンパク質をコードする DNA。

(a) 配列番号 2 に示されるアミノ酸配列からなるタンパク質

(b) 配列番号 2 に示されるアミノ酸配列において、1 若しくは数個のアミノ酸が欠失、置換若しくは付加されたアミノ酸配列からなり、かつ細胞移動調節及び細胞死調節機能を有するタンパク質

【請求項 2】 配列番号 1 に示される塩基配列若しくはその相補的配列又はこれらの配列の一部若しくは全部を含む配列からなる DNA。

【請求項 3】 請求項 2 記載の遺伝子を構成する DNA とストリンジェントな条件下でハイブリダイズし、かつ細胞移動調節及び細胞死調節機能を有するタンパク質をコードする DNA。

【請求項 4】 以下の(a)又は(b)のタンパク質をコードする DNA。

(a) 配列番号 4 に示されるアミノ酸配列からなるタンパク質

(b) 配列番号 4 に示されるアミノ酸配列において、1 若しくは数個のアミノ酸が欠失、置換若しくは付加されたアミノ酸配列からなり、かつ細胞移動調節及び細胞死調節機能を有するタンパク質

【請求項 5】 配列番号 3 に示される塩基配列若しくはその相補的配列又はこれらの配列の一部若しくは全部を含む配列からなる DNA。

【請求項 6】 請求項 5 記載の遺伝子を構成する DNA とストリンジェントな条件下でハイブリダイズし、かつ細胞移動調節及び細胞死調節機能を有するタンパク質をコードする DNA。

【請求項 7】 配列番号 2 に示されるアミノ酸配列からなるタンパク質。

【請求項 8】 配列番号 2 に示されるアミノ酸配列において、1 若しくは数個のアミノ酸が欠失、置換若しくは付加されたアミノ酸配列からなり、かつ細胞移動調節及び細胞死調節機能を有するタンパク質。

【請求項 9】 配列番号 4 に示されるアミノ酸配列からなるタンパク質。

【請求項 10】 配列番号 4 に示されるアミノ酸配列において、1 若しくは

数個のアミノ酸が欠失、置換若しくは付加されたアミノ酸配列からなり、かつ細胞移動調節及び細胞死調節機能を有するタンパク質。

【請求項 11】 細胞移動調節及び細胞死調節が、フィラミン (F i l a m i n) 1 の分解に起因することを特徴とする請求項 8 又は 10 記載のタンパク質。

【請求項 12】 請求項 7～11 のいずれか記載のタンパク質の一部からなり、細胞移動調節及び細胞死調節機能を有することを特徴とするペプチド。

【請求項 13】 細胞移動調節及び細胞死調節が、フィラミン (F i l a m i n) 1 の分解に起因することを特徴とする請求項 12 記載のペプチド。

【請求項 14】 請求項 7～11 のいずれか記載のタンパク質又は請求項 12 若しくは 13 記載のペプチドと、マーカータンパク質及び／又はペプチドタグとを結合させた融合タンパク質又は融合ペプチド。

【請求項 15】 請求項 7～11 のいずれか記載のタンパク質又は請求項 12 若しくは 13 記載のペプチドに特異的に結合する抗体。

【請求項 16】 抗体がモノクローナル抗体又はポリクローナル抗体であることを特徴とする請求項 15 記載の抗体。

【請求項 17】 請求項 15 又は 16 記載の抗体が特異的に結合する組換えタンパク質又はペプチド。

【請求項 18】 請求項 7～11 のいずれか記載のタンパク質又は請求項 12 若しくは 13 記載のペプチドを発現することができる発現系を含んでなる宿主細胞。

【請求項 19】 請求項 7～11 のいずれか記載のタンパク質又は請求項 12 若しくは 13 記載のペプチドをコードする遺伝子機能が染色体上で欠損した非ヒト動物。

【請求項 20】 請求項 7～11 のいずれか記載のタンパク質又は請求項 12 若しくは 13 記載のペプチドを過剰発現する非ヒト動物。

【請求項 21】 非ヒト動物が、マウス又はラットである請求項 19 又は 20 記載の非ヒト動物。

【請求項 22】 請求項 7～11 のいずれか記載のタンパク質、請求項 12

若しくは 13 記載のペプチド、又は請求項 7～11 のいずれか記載のタンパク質あるいは請求項 12 若しくは 13 記載のペプチドを発現している細胞膜と、被検物質とを用いることを特徴とする細胞移動調節及び／又は細胞死調節機能を促進又は抑制する物質のスクリーニング方法。

【請求項 23】 請求項 7～11 のいずれか記載のタンパク質又は請求項 12 若しくは 13 記載のペプチドを発現している細胞と、被検物質とを用いることを特徴とする細胞移動調節及び／又は細胞死調節機能を促進又は抑制する物質、あるいは請求項 7～11 のいずれか記載のタンパク質又は請求項 12 若しくは 13 記載のペプチドの発現促進若しくは抑制物質のスクリーニング方法。

【請求項 24】 請求項 19～21 のいずれか記載の非ヒト動物と、被検物質とを用いることを特徴とする細胞移動調節及び／又は細胞死調節機能を促進又は抑制する物質、あるいは請求項 7～11 のいずれか記載のタンパク質又は請求項 12 若しくは 13 記載のペプチドの発現促進若しくは抑制物質のスクリーニング方法。

【請求項 25】 請求項 22～24 のいずれか記載のスクリーニング方法により得られる細胞移動調節及び細胞死調節機能促進物質。

【請求項 26】 請求項 22～24 のいずれか記載のスクリーニング方法により得られる細胞移動調節及び細胞死調節機能抑制物質。

【請求項 27】 請求項 22～24 のいずれか記載のスクリーニング方法により得られる請求項 7～11 のいずれか記載のタンパク質又は請求項 12 若しくは 13 記載のペプチドの発現促進物質。

【請求項 28】 請求項 22～24 のいずれか記載のスクリーニング方法により得られる請求項 7～11 のいずれか記載のタンパク質又は請求項 12 若しくは 13 記載のペプチドの発現抑制物質。

【請求項 29】 請求項 7～11 のいずれか記載のタンパク質、請求項 12 若しくは 13 記載のペプチド、請求項 17 記載の組換えタンパク質若しくはペプチド、請求項 15 若しくは 16 記載の抗体、請求項 26 記載の細胞移動調節及び細胞死調節機能抑制物質、又は請求項 28 の発現抑制物質を有効成分として含有する癌・腫瘍の転移抑制剤又は移植治療用細胞移動調節剤。

【発明の詳細な説明】**【0 0 0 1】****【発明の属する技術分野】**

本発明は、神経細胞等の細胞移動調節機能及び細胞死調節機能を有するタンパク質及びそれをコードするDNA、並びにかかるタンパク質等を用いた、細胞移動及び／又は細胞死の制御や、細胞移動調節及び／又は細胞死調節機能を促進又は抑制する物質等のスクリーニング方法などに関する。

【0 0 0 2】**【従来の技術】**

ヒトの脳には千億を超える神経細胞（ニューロン）が存在し、複雑な神経回路を形成している。神経細胞は、発生が進むと決められた位置に決められた数だけ形成される。かかる神経細胞は、他の体細胞には見られない非常に複雑な形状を有し、核をもつ原形質部分である細胞体からは、樹状突起と軸索突起という2種類の突起が伸びている。樹枝状に伸びる樹状突起はスパイン（spine）と呼ばれる無数の棘構造を有し、他の細胞からの情報を受け取る機能をもつシナプス後部を形成している。この神経細胞特異的形態は、神経特異的なアクチン結合タンパクにより決定されることが知られている。

【0 0 0 3】

一方、脳は無意識レベルの作用の制御を行うだけでなく、感情や記憶、学習、創造といったいわゆる高次機能をも制御している重要な器官であるが、どのようにして脳の領域が決定され、各領域に特異的な脳の分化が起きるのかは未だ解明されていない。脳組織の構築には神経細胞の移動が必須であり、例えば大脳皮質であれば脳室帯にある神経幹細胞（放射状グリア）が分裂し、分裂の際に受け継いだ放射状突起を頼りに放射方向へ移動すること（radial migration）により層構造が形成される。このような神経細胞の移動にはPS-NCAMやslitなどの分子が関与していると指摘されているが、まだほとんど明らかにされていない。

【0 0 0 4】

上記のように有糸核分裂後の神経細胞の放射状移動（radial migration）は、

新皮質形成にとって重要である (J. Comp. Neurol. 145, 61-83, 1972、Nat. Neurosci. 4, 143-150, 2001、Nature 409, 714-720, 2001)。脳室帯で形成された神経細胞は、その目的地に正しく到達するまでに重要な判断を少なくとも2つ、すなわちいつ移動を開始するか、またいつ移動を停止するかという判断を下さなければならない。移動停止は、Reelinによって調節されていると考えられているが (Nature 374, 719-723, 1995、Nature 389, 730-733, 1997、Nature 389, 733-737, 1997、Neuron 24, 471-479, 1999、Neuron 24, 481-489, 1999、Cell 99, 635-647, 1999、Cell 97, 689-701, 1999、Neuron 27, 33-44, 2000)、移動開始を調節に関与する分子についてはほとんど解明されていない。唯一、アクチン結合タンパク質フィラミン1が、ヒトの神経細胞移動障害、すなわち脳室表面を覆う多くの神経細胞によるperiventricular nodular heterotopia (異所性脳室周囲結節状疾患) を引き起こすということが報告されているに過ぎなかった (Neuron 16, 77-87, 1996、Neuron 21, 1315-1325, 1998)。

【0005】

【発明が解決しようとする課題】

本発明の課題は、神経細胞等の細胞移動調節機能及び細胞死調節機能を有するタンパク質及びかかるタンパク質をコードするDNAに関し、特にアクチン結合タンパク質と相互作用し、かかるアクチン結合タンパク質の分解を促進することにより、神経細胞等の細胞移動能及び細胞死を調節するタンパク質及びそれらをコードするDNA等を用いた、細胞移動及び／又は細胞死の制御や、細胞移動調節及び／又は細胞死調節機能を促進又は抑制する物質等のスクリーニング方法などを提供することにある。

【0006】

【課題を解決するための手段】

大脳皮質構築時の神経細胞移動に関わる分子メカニズムの解明には層構造に異常を有する大脳皮質の解析が有力な手がかりを提供すると考えられており、例えば、リーラーマウスの研究から細胞移動を停止させる分子機構の解明は急速に進んでいる。同様に、移動できない神経細胞が神経上皮層に留まったままになるperiventricular nodular heterotopiaは神経細胞が移動を開始・維持するメカニ

ズムを解く糸口と考えられ、アクチン結合タンパク質フィラミン1の異常が原因であることが判明している。

【0007】

一方、本発明者らは、ラット発生期大脳皮質由来の細胞骨格関連新規タンパク質FILIP (Filamin-interacting protein) について報告しており、かかるFILIP (S-FILIP) 分子は全長965アミノ酸残基からなると予測され、そのN末端側半分がロイシンジッパーモチーフを含むコイルド-コイル (coiled-coil) 構造をとることを明らかにした。また、酵母ツーハイブリッド法や免疫沈降法によってFILIP分子のC末端側半分がアクチン結合タンパク質であるフィラミン1と結合することを明らかにしている。フィラミン1は大脳皮質形成期における細胞移動に必須の分子であり、フィラミン1遺伝子の変異は大脳皮質神経細胞の移動障害を特徴とするperiventricular nodular heterotopiaの原因となることが知られている。このことから、形成中の大脳皮質においてFILIP (S-FILIP) がフィラミン1と会合してそれらの機能を制御することにより細胞移動を調節する可能性が考えられた。この仮説を検証するため、培養細胞にFILIPを発現させ細胞移動の様子を時間を追って観察した。その結果、FILIP発現細胞の移動は対照に比べて制御されており、FILIP (S-FILIP) が細胞移動の負の調節因子であることが示唆された。

【0008】

その後、本発明者らは鋭意研究した結果、FILIPs (L-FILIP及びS-FILIP) を同定し、かかるFILIPsが細胞移動能や細胞死をコントロールする機能を有することを見い出し、本発明を完成した。すなわちFILIP分子 (965アミノ酸残基; S-FILIP; GenBank accession number D87257) と、そのN末端側に247残基を加えた1212残基のL-FILIP (GenBank accession number AB055759) である。また、新規タンパク質L-FILIP又はS-FILIPを細胞内に導入すると、これらの分子は細胞内において一部繊維状アクチンと共存し、さらに同細胞においては、繊維状アクチンの分解、短小化が起こり、細胞膜からの葉状仮足 (lamellipodia) 形成率が低下し、細胞の移動度を有意に低下することを見い出した。さらに、新規分子であるL-F

I L I P は S - F I L I P に比べて大脳皮質神経上皮におけるタンパク質発現量が多いだけでなく、培養細胞を用いた検討の結果フィラミン1分解促進作用もより顕著であることを見出した。これらのことから、大脳皮質神経上皮においてフィラミン1の分解を促進することにより細胞移動を負に調節する役割はS - F I L I P よりも主としてL - F I L I P が担っていることが明らかとなった。

【0009】

S - F I L I P 又はL - F I L I P と、フィラミン1とを同一細胞内に発現させ、フィラミン1の変化を観察したところ、上記と同様にF I L I P の発現によりフィラミンの分解が促進される様子が観察された。かかる変化もL - F I L I P において顕著であった。また、正常ラットの胎生期の脳においてフィラミン1の発現を検討したところ、フィラミン1の遺伝子発現は観察されるものの、F I L I P の遺伝子発現が観察され皮質板への細胞移動がまだ起こっていない脳室帯に存在する細胞において、フィラミン1タンパク質の発現量が大きく低下している細胞が多く観察された。他方、新規分子L - F I L I P を導入した培養細胞において、かかる細胞数の減少が確認され、F I L I P s が細胞死の調節にも関与していることを明らかにした。本発明は、以上のような知見に基づき完成するに至ったものである。

【0010】

すなわち本発明は、以下の(a)又は(b)のタンパク質をコードするDNA(a)配列番号2に示されるアミノ酸配列からなるタンパク質(b)配列番号2に示されるアミノ酸配列において、1若しくは数個のアミノ酸が欠失、置換若しくは付加されたアミノ酸配列からなり、かつ細胞移動調節及び細胞死調節機能を有するタンパク質(請求項1)や、配列番号1に示される塩基配列若しくはその相補的配列又はこれらの配列の一部若しくは全部を含む配列からなるDNA(請求項2)や、請求項2記載の遺伝子を構成するDNAとストリンジェントな条件下でハイブリダイズし、かつ細胞移動調節及び細胞死調節機能を有するタンパク質をコードするDNA(請求項3)や、以下の(a)又は(b)のタンパク質をコードするDNA(a)配列番号4に示されるアミノ酸配列からなるタンパク質(b)配列番号4に示されるアミノ酸配列において、1若しくは数個のアミノ酸が欠失、置換若し

くは付加されたアミノ酸配列からなり、かつ細胞移動調節及び細胞死調節機能を有するタンパク質（請求項4）や、配列番号3に示される塩基配列若しくはその相補的配列又はこれらの配列の一部若しくは全部を含む配列からなるDNA（請求項5）や、請求項5記載の遺伝子を構成するDNAとストリンジェントな条件下でハイブリダイズし、かつ細胞移動調節及び細胞死調節機能を有するタンパク質をコードするDNA（請求項6）に関する。

【0011】

また本発明は、配列番号2に示されるアミノ酸配列からなるタンパク質（請求項7）や、配列番号2に示されるアミノ酸配列において、1若しくは数個のアミノ酸が欠失、置換若しくは付加されたアミノ酸配列からなり、かつ細胞移動調節及び細胞死調節機能を有するタンパク質（請求項8）や、配列番号4に示されるアミノ酸配列からなるタンパク質（請求項9）や、配列番号4に示されるアミノ酸配列において、1若しくは数個のアミノ酸が欠失、置換若しくは付加されたアミノ酸配列からなり、かつ細胞移動調節及び細胞死調節機能を有するタンパク質（請求項10）や、細胞移動調節及び細胞死調節が、フィラミン（F i l a m i n）1の分解に起因することを特徴とする請求項8又は10記載のタンパク質（請求項11）に関する。

【0012】

さらに本発明は、請求項7～11のいずれか記載のタンパク質の一部からなり、細胞移動調節及び細胞死調節機能を有することを特徴とするペプチド（請求項12）や、細胞移動調節及び細胞死調節が、フィラミン（F i l a m i n）1の分解に起因することを特徴とする請求項12記載のペプチド（請求項13）や、請求項7～11のいずれか記載のタンパク質又は請求項12若しくは13記載のペプチドと、マーカータンパク質及び／又はペプチドタグとを結合させた融合タンパク質又は融合ペプチド（請求項14）や、請求項7～11のいずれか記載のタンパク質又は請求項12若しくは13記載のペプチドに特異的に結合する抗体（請求項15）や、抗体がモノクローナル抗体又はポリクローナル抗体であることを特徴とする請求項15記載の抗体（請求項16）や、請求項15又は16記載の抗体が特異的に結合する組換えタンパク質又はペプチド（請求項17）や、

請求項 7～11 のいずれか記載のタンパク質又は請求項 12 若しくは 13 記載のペプチドを発現することができる発現系を含んでなる宿主細胞（請求項 18）や、請求項 7～11 のいずれか記載のタンパク質又は請求項 12 若しくは 13 記載のペプチドをコードする遺伝子機能が染色体上で欠損した非ヒト動物（請求項 19）や、請求項 7～11 のいずれか記載のタンパク質又は請求項 12 若しくは 13 記載のペプチドを過剰発現する非ヒト動物（請求項 20）や、非ヒト動物が、マウス又はラットである請求項 19 又は 20 記載の非ヒト動物（請求項 21）に関する。

【0013】

また本発明は、請求項 7～11 のいずれか記載のタンパク質、請求項 12 若しくは 13 記載のペプチド、又は請求項 7～11 のいずれか記載のタンパク質あるいは請求項 12 若しくは 13 記載のペプチドを発現している細胞膜と、被検物質とを用いることを特徴とする細胞移動調節及び／又は細胞死調節機能を促進又は抑制する物質のスクリーニング方法（請求項 22）や、請求項 7～11 のいずれか記載のタンパク質又は請求項 12 若しくは 13 記載のペプチドを発現している細胞と、被検物質とを用いることを特徴とする細胞移動調節及び／又は細胞死調節機能を促進又は抑制する物質、あるいは請求項 7～11 のいずれか記載のタンパク質又は請求項 12 若しくは 13 記載のペプチドの発現促進若しくは抑制物質のスクリーニング方法（請求項 23）や、請求項 19～21 のいずれか記載の非ヒト動物と、被検物質とを用いることを特徴とする細胞移動調節及び／又は細胞死調節機能を促進又は抑制する物質、あるいは請求項 7～11 のいずれか記載のタンパク質又は請求項 12 若しくは 13 記載のペプチドの発現促進若しくは抑制物質のスクリーニング方法（請求項 24）に関する。

【0014】

また本発明は、請求項 22～24 のいずれか記載のスクリーニング方法により得られる細胞移動調節及び細胞死調節機能促進物質（請求項 25）や、請求項 22～24 のいずれか記載のスクリーニング方法により得られる細胞移動調節及び細胞死調節機能抑制物質（請求項 26）や、請求項 22～24 のいずれか記載のスクリーニング方法により得られる請求項 7～11 のいずれか記載のタンパク質

又は請求項 12 若しくは 13 記載のペプチドの発現促進物質（請求項 27）や、請求項 22～24 のいずれか記載のスクリーニング方法により得られる請求項 7～11 のいずれか記載のタンパク質又は請求項 12 若しくは 13 記載のペプチドの発現抑制物質（請求項 28）や、請求項 7～11 のいずれか記載のタンパク質、請求項 12 若しくは 13 記載のペプチド、請求項 17 記載の組換えタンパク質若しくはペプチド、請求項 15 若しくは 16 記載の抗体、請求項 26 記載の細胞移動調節及び細胞死調節機能抑制物質、又は請求項 28 の発現抑制物質を有効成分として含有する癌・腫瘍の転移抑制剤又は移植治療用細胞移動調節剤（請求項 29）に関する。

【0015】

【発明の実施の形態】

本発明のタンパク質としては、配列番号 2 で示される L-FILIP や、配列番号 4 で示される S-FILIP や、配列番号 2 又は 4 で示されるアミノ酸配列において、1 若しくは数個のアミノ酸が欠失、置換若しくは付加されたアミノ酸配列からなり、かつ細胞移動調節及び細胞死調節機能を有するタンパク質等を挙げることができる。上記細胞移動調節及び細胞死調節機能とは、細胞移動能を制御したり、細胞死を制御する機能をいう。なお、本件タンパク質はその DNA 配列情報等に基づき公知の方法で調製することができ、その由来は特に制限されるものではない。また、本発明の対象となるペプチドとしては、本発明のタンパク質の一部からなり、細胞移動調節及び細胞死調節機能を有するものであればどのようなものでもよい。上記本発明の対象となるタンパク質及びペプチド、並びにこれらタンパク質及びペプチドに特異的に結合する抗体が特異的に結合する組換えタンパク質及びペプチドを総称して、以下「本件タンパク質・ペプチド」ということがある。なお、本件タンパク質・ペプチドはその DNA 配列情報等に基づき公知の方法で調製することができ、かかるタンパク質の由来はラットに限定されるものではない。

【0016】

本発明の対象となる DNA としては、上記本件タンパク質をコードするものであればどのようなものでもよく、例えば、配列番号 2 に示される L-FILIP

をコードするDNAや、配列番号4で示されるS-FILIPや、配列番号2又は4で示されるアミノ酸配列において、1若しくは数個のアミノ酸が欠失、置換若しくは付加されたアミノ酸配列からなり、かつ細胞移動調節及び細胞死調節機能を有するタンパク質等をコードするDNAや、配列番号1又は3に示される塩基配列又はその相補的配列並びにこれらの配列の一部又は全部を含む配列からなるDNAを具体的に挙げることができる。これらはそのDNA配列情報等に基づき、例えばヒト、マウス、ラット、ウサギ等の遺伝子ライブラリーやcDNAライブラリーなどから公知の方法により調製することができる。

【0017】

また、配列番号1又は3に示される塩基配列又はその相補的配列並びにこれらの配列の一部又は全部を含む配列からなるDNAをプローブとして、各種DNAライブラリーに対してストリンジェントな条件下でハイブリダイゼーションを行ない、該プローブにハイブリダイズするDNAを単離することにより、新規の細胞移動調節及び細胞死調節機能を有するタンパク質をコードするDNAを得ることもできる。こうして得られるDNAも本発明の範囲である。かかる本発明のDNAを取得するためのハイブリダイゼーションの条件としては、例えば、42℃でのハイブリダイゼーション、及び1×SSC、0.1%のSDSを含む緩衝液による42℃での洗浄処理を挙げることができ、65℃でのハイブリダイゼーション、及び0.1×SSC、0.1%のSDSを含む緩衝液による65℃での洗浄処理をより好ましく挙げるができる。なお、ハイブリダイゼーションのストリンジェンシーに影響を与える要素としては、上記温度条件以外に種々の要素があり、当業者であれば、種々の要素を適宜組み合わせ、上記例示したハイブリダイゼーションのストリンジェンシーと同等のストリンジェンシーを実現することが可能である。

【0018】

本発明の融合タンパク質や融合ペプチドとしては、本件タンパク質・ペプチドとマーカータンパク質及び／又はペプチドタグとが結合しているものであればどのようなものでもよく、マーカータンパク質としては、従来知られているマーカータンパク質であれば特に制限されるものではなく、例えば、アルカリフォスフ

ァターゼ、抗体のFc領域、HRP、GFPなどを具体的に挙げることができ、また本発明におけるペプチドタグとしては、HAタグ、Mycタグ、Hisタグ、FLAGタグ、GSTタグなどの従来知られているペプチドタグを具体的に例示することができる。かかる融合タンパク質は、常法により作製することができ、Ni-NTAとHisタグの親和性を利用した細胞移動調節及び細胞死調節機能を有するタンパク質等の精製や、細胞移動調節及び細胞死調節機能を有するタンパク質の検出や、細胞移動調節及び細胞死調節機能を有するタンパク質等に対する抗体の定量、癌・腫瘍の転移抑制剤又は移植治療用細胞移動調節剤などとして、また当該分野の研究用試薬としても有用である。

【0019】

本発明の前記タンパク質やペプチドに特異的に結合する抗体としては、モノクローナル抗体、ポリクローナル抗体、キメラ抗体、一本鎖抗体、ヒト化抗体等の免疫特異的な抗体を具体的に挙げることができ、これらは上記本件タンパク質・ペプチド、融合タンパク質や融合ペプチド等の全部又は一部を抗原として用いて常法により作製することができるが、その中でもモノクローナル抗体がその特異性の点でより好ましい。かかるモノクローナル抗体等の抗体は、例えば、癌・腫瘍の転移抑制剤又は移植治療用細胞移動調節剤等ばかりでなく、癌・腫瘍の転移、神経細胞等の細胞移動などの機構を明らかにする上で有用である。

【0020】

上記の本発明の抗体は、慣用のプロトコルを用いて、動物（好ましくはヒト以外）に本件タンパク質・ペプチド若しくはエピトープを含むその断片、又は該タンパク質を膜表面に発現した細胞を投与することにより産生され、例えばモノクローナル抗体の調製には、連続細胞系の培養物により産生される抗体をもたらし、ハイブリドーマ法（Nature 256, 495-497, 1975）、トリオーマ法、ヒトB細胞ハイブリドーマ法（Immunology Today 4, 72, 1983）及びEBV-ハイブリドーマ法（MONOCLONAL ANTIBODIES AND CANCER THERAPY, pp.77-96, Alan R.Liss, Inc., 1985）など任意の方法を用いることができる。

【0021】

本発明の上記本件タンパク質・ペプチドに対する一本鎖抗体をつくるために、

一本鎖抗体の調製法（米国特許第4,946,778号）を適用することができる。また、ヒト化抗体を発現させるために、トランスジェニックマウス又は他の哺乳動物等を利用したり、上記抗体を用いて、本件タンパク質・ペプチドを発現するクローンを単離・同定したり、アフィニティークロマトグラフィーでそのポリペプチドを精製することもできる。本件タンパク質・ペプチドに対する抗体は、前記のように癌・腫瘍の転移抑制剤又は移植治療用細胞移動調節剤や、癌・腫瘍の転移、神経細胞等の細胞移動などの機構を明らかにする上で有用であるに使用できる可能性がある。そして、これら抗体が特異的に結合する組換えタンパク質又はペプチドも、前記のように本発明の本件タンパク質・ペプチドに包含される。

【0022】

また前記モノクローナル抗体等の抗体に、例えば、F I T C（フルオレセインイソシアネート）又はテトラメチルローダミンイソシアネート等の蛍光物質や、 ^{125}I 、 ^{32}P 、 ^{14}C 、 ^{35}S 又は ^3H 等のラジオアイソトープや、アルカリホスファターゼ、ペルオキシダーゼ、 β -ガラクトシダーゼ又はフィコエリトリン等の酵素で標識したものや、グリーン蛍光タンパク質（G F P）等の蛍光発光タンパク質などを融合させた融合タンパク質を用いることによって、本件タンパク質・ペプチドの機能解析を行うことができる。また本件発明の抗体を用いる免疫学的測定方法としては、R I A法、E L I S A法、蛍光抗体法、プラーク法、スポット法、血球凝集反応法、オクタロニー法等の方法を挙げることができる。

【0023】

本発明はまた、上記本件タンパク質・ペプチドを発現することができる発現系を含んでなる宿主細胞に関する。かかる本件タンパク質・ペプチドをコードする遺伝子の宿主細胞への導入は、Davisら（BASIC METHODS IN MOLECULAR BIOLOGY, 1986）及びSambrookら（MOLECULAR CLONING: A LABORATORY MANUAL, 2nd Ed., Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, N.Y., 1989）などの多くの標準的な実験室マニュアルに記載される方法、例えば、リン酸カルシウムトランスフェクション、D E A E-デキストラン媒介トランスフェクション、トランスベクション(transvection)、マイクロインジェクション、カチオン性脂質媒介トランスフェクション、エレクトロポレーション、形質導入、スクレー

プローディング (scrape loading)、弾丸導入(ballistic introduction)、感染等により行うことができる。そして、宿主細胞としては、大腸菌、ストレプトミセス、枯草菌、ストレプトコッカス、スタフィロコッカス等の細菌原核細胞や、酵母、アスペルギルス等の真菌細胞や、ドロソフィラ S 2、スポドプテラ S f 9 等の昆虫細胞や、L 細胞、CHO 細胞、COS 細胞、NIH 3 T 3 細胞、HeLa 細胞、C 1 2 7 細胞、BALB/c 3 T 3 細胞 (ジヒドロ葉酸レダクターゼやチミジンキナーゼなどを欠損した変異株を含む)、BHK 2 1 細胞、HEK 2 9 3 細胞、B o w e s 悪性黒色腫細胞等の動物細胞や、植物細胞等を挙げることができる。

【0024】

また、発現系としては、上記本件タンパク質・ペプチドを宿主細胞内で発現させることができる発現系であればどのようなものでもよく、染色体、エピソーム、哺乳動物及びウイルスに由来する発現系、例えば、細菌プラスミド由来、酵母プラスミド由来、SV 4 0 のようなパポバウイルス、ワクシニアウイルス、アデノウイルス、鶏痘ウイルス、仮性狂犬病ウイルス、レトロウイルス由来のベクター、バクテリオファージ由来、トランスポゾン由来及びこれらの組合せに由来するベクター、例えば、コスミドやファージミドのようなプラスミドとバクテリオファージの遺伝的要素に由来するものを挙げることができる。この発現系は発現を起こさせるだけでなく発現を調節する制御配列を含んでいてもよい。

【0025】

上記発現系を含んでなる宿主細胞やかかる細胞の細胞膜、またかかる細胞を培養して得られる本件タンパク質・ペプチドは、後述するように本発明のスクリーニング方法に用いることができる。例えば、細胞膜を得る方法としては、F. Pietri-Rouxel (Eur. J. Biochem., 247, 1174-1179, 1997) らの方法などを用いることができる。また、かかる本件タンパク質・ペプチドを細胞培養物から回収し精製するには、硫酸アンモニウムまたはエタノール沈殿、酸抽出、アニオンまたはカチオン交換クロマトグラフィー、ホスホセルロースクロマトグラフィー、疎水性相互作用クロマトグラフィー、アフィニティークロマトグラフィー、ハイドロキシアパタイトクロマトグラフィーおよびレクチンクロマトグラフィーを含め

た公知の方法、好ましくは、高速液体クロマトグラフィーが用いられる。特に、アフィニティークロマトグラフィーに用いるカラムとしては、例えば、本件タンパク質・ペプチドに対する抗体を結合させたカラムや、上記本件タンパク質・ペプチドに通常のペプチドタグを付加した場合は、このペプチドタグに親和性のある物質を結合したカラムを用いることにより、本件タンパク質・ペプチドを得ることができる。上記本件タンパク質・ペプチドの精製方法は、ペプチド合成の際にも適用することができる。

【0026】

本発明において、上記本件タンパク質・ペプチドをコードする遺伝子機能が染色体上で欠損した非ヒト動物とは、染色体上の本件タンパク質・ペプチドをコードする遺伝子の一部若しくは全部が破壊・欠損・置換等の遺伝子変異により不活性化され、本件タンパク質・ペプチドを発現する機能を失なった非ヒト動物をいい、また、本件タンパク質・ペプチドを過剰発現する非ヒト動物としては、野生型非ヒト動物に比べてかかる本件タンパク質・ペプチドを大量に産生する非ヒト動物を具体的に提示することができる。そして、本発明における非ヒト動物としては、マウス、ラット等の齧歯目動物などの非ヒト動物を具体的に挙げるができるが、これらに限定されるものではない。

【0027】

ところで、メンデルの法則に従い出生してくるホモ接合体非ヒト動物には、本件タンパク質・ペプチド欠損型又は過剰発現型とその同腹の野生型とが含まれ、これらホモ接合体非ヒト動物における欠損型又は過剰発現型とその同腹の野生型を同時に用いることによって個体レベルで正確な比較実験をすることができることから、野生型の非ヒト動物、すなわち本件タンパク質・ペプチドをコードする遺伝子機能が染色体上で欠損又は過剰発現する非ヒト動物と同種の動物、さらには同腹の動物を、例えば下記に記載する本発明のスクリーニングに際して併用することが好ましい。かかる本件タンパク質・ペプチドをコードする遺伝子機能が染色体上で欠損又は過剰発現する非ヒト動物の作製方法を、L-FILIPノックアウトマウスやL-FILIPトランスジェニックマウスを例にとって以下説明する。

【0028】

例えば、L-FILIPタンパク質をコードする遺伝子機能が染色体上で欠損したマウス、すなわちL-FILIPノックアウトマウスは、マウス遺伝子ライブラリーからPCR等の方法により得られた遺伝子断片を用いて、ラットL-FILIPと相同性を有するマウスL-FILIPをコードする遺伝子をスクリーニングし、スクリーニングされたマウスL-FILIPをコードする遺伝子をウイルスベクター等を用いてサブクローンし、DNAシーケンシングにより特定する。このクローンのマウスL-FILIPをコードする遺伝子の全部又は一部をpMC1ネオ遺伝子カセット等に置換し、3'末端側にジフテリアトキシンAフラグメント(DT-A)遺伝子や単純ヘルペスウイルスのチミジンキナーゼ(HSV-tk)遺伝子等の遺伝子を導入することによって、ターゲティングベクターを作製する。

【0029】

この作製されたターゲティングベクターを線状化し、エレクトロポレーション(電気穿孔)法等によってES細胞に導入し、相同的組換えを行い、その相同的組換え体の中から、G418やガンシクロビア(GANC)等の抗生物質により相同的組換えを起こしたES細胞を選択する。また、この選択されたES細胞が目的とする組換え体かどうかをサザンブロット法等により確認することが好ましい。その確認されたES細胞のクローンをマウスの胚盤胞中にマイクロインジェクションし、かかる胚盤胞を仮親のマウスに戻し、キメラマウスを作製する。このキメラマウスを野生型のマウスとインタークロスさせると、ヘテロ接合体マウスを得ることができ、また、このヘテロ接合体マウスをインタークロスさせることによって、本発明のL-FILIPノックアウトマウスを作製することができる。また、L-FILIPノックアウトマウスにおいてL-FILIPの発現能が欠失しているかどうかを確認する方法としては、例えば、上記の方法により得られたマウスからRNAを単離してノーザンブロット法等により調べたり、またこのマウスにおけるL-FILIPの発現をウエスタンブロット法等により直接調べる方法がある。

【0030】

L-FILIPのトランスジェニックマウスは、ヒト、マウス、ラット、ウサギ等に由来するL-FILIPをコードするcDNAに、チキン β -アクチン、マウスニューロフィラメント、SV40等のプロモーター、及びラビット β -グロビン、SV40等のポリA又はイントロンを融合させて導入遺伝子を構築し、該導入遺伝子をマウス受精卵の前核にマイクロインジェクションし、得られた卵細胞を培養した後、仮親のマウスの輸卵管に移植し、その後被移植動物を飼育し、産まれた仔マウスから前記cDNAを有する仔マウスを選択することにより、トランスジェニックマウスを創製することができる。また、cDNAを有する仔マウスの選択は、マウスの尻尾等より粗DNAを抽出し、導入したL-FILIPをコードする遺伝子をプローブとするドットハイブリダイゼーション法や、特異的プライマーを用いたPCR法等により行うことができる。

【0031】

また、上記本件タンパク質・ペプチドをコードする遺伝子若しくはDNA、本件タンパク質・ペプチド、本件タンパク質・ペプチドとマーカートンパク質及び／又はペプチドタグとを結合させた融合タンパク質、本件タンパク質・ペプチドに対する抗体、本件タンパク質・ペプチドを発現することができる発現系を含んでなる宿主細胞等は、以下に具体的に説明するように、癌・腫瘍の転移抑制剤又は移植治療用細胞移動調節剤等に有用であり、細胞移動及び／又は細胞死の制御や、細胞移動調節及び／又は細胞死調節機能を促進又は抑制する物質のスクリーニングや、本件タンパク質・ペプチドの発現促進又は抑制物質のスクリーニング方法などに用いることができるばかりでなく、癌・腫瘍の転移、神経細胞等の細胞移動などのメカニズムの解明にも使用することができる。

【0032】

本発明の細胞移動調節及び／又は細胞死調節機能を促進又は抑制する物質のスクリーニング方法としては、前記本発明の本件タンパク質・ペプチド又は本件タンパク質・ペプチドを発現している細胞膜と、被検物質とを用いる方法や、前記本件タンパク質・ペプチドを発現している細胞と、被検物質とを用いる方法や、本件タンパク質・ペプチドのノックアウトマウスやトランスジェニックマウス等の非ヒト動物と、被検物質とを用いる方法等を挙げることができる。また、前記

本件タンパク質・ペプチドを発現している細胞と、被検物質とを用いる方法や、本件タンパク質・ペプチドのノックアウトマウスやトランスジェニックマウス等の非ヒト動物と、被検物質とを用いる方法等は本件タンパク質・ペプチドの発現促進又は抑制物質のスクリーニング方法に用いることができる。

【0 0 3 3】

上記本件タンパク質・ペプチド又は本件タンパク質・ペプチドを発現している細胞膜と被検物質とを用いるスクリーニング方法としては、本件タンパク質・ペプチド又は細胞膜表面に発現している本件タンパク質・ペプチドと、被検物質とを接触せしめ、該本件タンパク質・ペプチドの細胞移動調節及び細胞死調節機能を測定・評価する方法を具体的に挙げることができる。また、本件タンパク質・ペプチドを発現している細胞と、被検物質とを用いるスクリーニング方法としては、本件タンパク質・ペプチドを発現している細胞と被検物質とを接触せしめ、該本件タンパク質・ペプチドの細胞移動調節及び細胞死調節機能や本件タンパク質・ペプチドの発現量の変化を測定・評価する方法を具体的に挙げるができる。

【0 0 3 4】

前記本件タンパク質・ペプチドをコードする遺伝子機能が染色体上で欠損した非ヒト動物又は本件タンパク質・ペプチドを過剰発現する非ヒト動物と、被検物質とを用いたスクリーニング方法としては、これら非ヒト動物から得られる細胞又は組織と、被検物質とをインビトロで接触せしめ、該本件タンパク質・ペプチドの細胞移動調節及び細胞死調節機能や本件タンパク質・ペプチドの発現量の変化を測定・評価する方法や、前記本件タンパク質・ペプチドをコードする遺伝子機能が染色体上で欠損した非ヒト動物又は本件タンパク質・ペプチドを過剰発現する非ヒト動物にあらかじめ被検物質を投与した後、該非ヒト動物から得られる細胞又は組織における該本件タンパク質・ペプチドの細胞移動調節及び細胞死調節機能や本件タンパク質・ペプチドの発現量の変化を測定・評価する方法や、前記本件タンパク質・ペプチドをコードする遺伝子機能が染色体上で欠損した非ヒト動物又は本件タンパク質・ペプチドを過剰発現する非ヒト動物にあらかじめ被検物質を投与した後、該非ヒト動物における該本件タンパク質・ペプチドの細胞

移動調節及び細胞死調節機能や本件タンパク質・ペプチドの発現量の変化を測定・評価する方法などを具体的に挙げることができる。

【0035】

また上記スクリーニング方法により得られる本発明の細胞移動調節及び細胞死調節機能促進物質や発現促進物質は、細胞移動調節及び細胞死調節機能の促進や本件タンパク質・ペプチドの発現の促進を必要としている患者の治療等に用いることができる。また、上記スクリーニング方法により得られる本発明の細胞移動調節及び細胞死調節機能抑制物質や発現抑制物質は、細胞移動調節及び細胞死調節機能の抑制や本件タンパク質・ペプチドの発現の抑制を必要としている患者の治療等に用いることができる。本発明の本件タンパク質・ペプチド又はこれに対する抗体は、癌・腫瘍の転移抑制剤、移植治療用細胞移動調節剤等の有効成分として用いることができ、また、ミサイル療法に用いることもできる。これらの治療薬は、経口的あるいは非経口的に投与することができる。経口投与剤としては散剤、顆粒剤、カプセル剤、錠剤などの固形製剤あるいはシロップ剤、エリキシル剤などの液状製剤とすることができる。また、非経口投与剤として注射剤、経皮製剤あるいは座薬等とすることができる。これらの製剤は活性成分に薬理的、製剤学的に認容される助剤を加えることにより常法に従って製造することができる。助剤としては、例えば、経口剤および粘膜投与剤にあつては、軽質無水ケイ酸、澱粉、乳糖、結晶セルロース、乳糖カルシウム等の賦形剤、カルボキシメチルセルロース等の崩壊剤、ステアリン酸マグネシウム等の滑沢剤などの製剤用成分が、また注射剤にあつては、生理食塩水、マンニトール、プロピレングリコール等の溶解剤ないし溶解補助剤、界面活性剤などの懸濁化剤などの製剤用成分が、さらに外用剤にあつては、水性ないし油性の溶解剤ないし溶解補助剤、粘着剤などの製剤用成分が使用される。また、投与量は、対象疾患の種類、患者の年齢、性別、体重、症状、投与形態に応じて適宜決定することができる。

【0036】

【実施例】

以下に、実施例を掲げてこの発明を更に具体的に説明するが、この発明の範囲はこれらの例示に限定されるものではない。なお、下記の実施例に使用したウイ



スターラット (Keari社製; S L C社製) は、一定の温度・湿度条件下で、餌及び水分を十分に与えて飼育したものを用いた。上記動物において膣栓が確立した日を胎生0日 (E 0) とし、出生日をP 0 (生後0日) とした。また、P 0 ~ P 7 のラットにおいては低体温法により、P 1 4 ラット又は妊娠中ラットを含む成熟ラットにおいては40 mg / kg のペントバルビタールナトリウムを腹腔内に投与し麻酔を施した。

【0037】

実施例1 (F I L I P cDNAの単離及びF I L I Pの局在化)

アクチン結合タンパク質であるフィラミン (F i l a m i n) 1 (A B P - 280) は、有糸核分裂後新皮質神経細胞を得るための放射状移動 (radial migratory) 機構において重要な要素であることが知られているが (Neuron 21, 1315-1325, 1998)、フィラミン1が中間帯から皮質板における新皮質の形成に関与する移動性の神経細胞及び移動後の神経細胞において発現していること (Neuron 21, 1315-1325, 1998) から、脳室帯からの移動開始は他の系により制御されているのではないかと考えた。そこで、神経細胞の移動開始の調節に関与する分子を解明するため、文献 (Mol. Brain Res. 62, 187-195, 1998) 記載の方法に従って、mRNAディファレンシャルディスプレイ、インサイチューハイブリダイゼーション組織化学、及びラット cDNAライブラリーのスクリーニングを行った。先ず、mRNAディファレンシャルディスプレイにより、胎生18~20日 (E 18-20) のウイスターラット (Wistar rats) に比べ、胎生11~12日 (E 11-12) のウイスターラットの新皮質において高発現を示した遺伝子を単離した。有糸核分裂後の神経細胞は、E 12のウイスターラットでは脳室帯から脳軟膜表面に向けて移動する段階であったが、E 18-20頃までには上記神経細胞のほとんどは脳室を出て神経発生が完了していた。上記の結果得られた、E 12においては顕著に発現し、E 18-20においてはあまり発現していなかった200個の遺伝子フラグメントの配列を決定し、重複配列を除外した結果、80個の独立クローンを得た。

【0038】

次にプローブとしてラット S - F I L I P 全長の一部 (165ヌクレオチド;

1 2 8 9 ~ 1 4 5 3 番目までの塩基配列) を用いたインサイチューハイブリダイゼーション組織化学法により、さらなる選択を行った。その結果、8 0 個の独立クローンの中から皮質の脳室帯において発現を示した新規クローンを 1 個単離し、f i l i p (Filamin-interacting protein) と命名した。かかる F I L I P (S - F I L I P) 遺伝子の発現を調べるために、E 1 2 及び E 1 8 ラットを矢状断切片を用いてインサイチューハイブリダイゼーションを行った。結果を図 1 a 示す (参考写真 1 参照)。このことから、E 1 2 の中枢神経系における大脳皮質 (c x) 及び上丘 (s c) の脳室帯においてポジティブシグナルが確認できた (図 1 a 左)。しかし、E 1 8 における脳室帯ではシグナルがあまり確認できなかったが、心臓、大動脈、消化管、及び横隔膜においてシグナルが豊富にみられ、f i l i p 遺伝子が心筋、骨格筋、及び平滑筋において発現することがわかった (図 1 a 右)。なお、図 1 a 中のスケールバーは 1 mm を表す。

【 0 0 3 9 】

E 1 1 のウイスターラット前頭葉由来の c D N A ライブラリーを構築し、上記インサイチューハイブリダイゼーションセレクションにおいて用いたプローブと、Marathon cDNA Amplification Kit (CLONTECH 社製) を使用して F I L I P をスクリーニングした。また、データベース (D D B J) による遺伝情報を一部利用し、F I L I P c D N A を単離した。その結果、上記プローブを認識する領域を含み、5' 末端が異なる 2 つの完全長 F I L I P c D N A が得られた。かかる 2 つの c D N A 情報からアミノ酸配列をそれぞれ決定し、その構造を図 1 b に示す (参考写真 1 参照)。その結果、S - F I L I P (short form FILIP; GenBank accession number D87257) は L - F I L I P (long form FILIP; GenBank accession number AB055759) の N 末端 2 4 7 残基が欠失していたが、それ以外の構造は一致することが確認できた。また、疎水性プロフィールにより上記 2 つのタンパク質はシグナル配列も膜貫通領域も有していないことから、細胞内タンパク質であることがわかった。しかし、S - F I L I P の C 末端半分において 4 つのロイシンジッパーモチーフ及びコイルド-コイル領域が確認できたが (図 1 c ; 参考写真 1 参照)、かかる領域のアミノ酸配列は現在までに報告されているタンパク質のいずれとも類似性を示さないことがわかった (図 1 b、c)。

【0040】

次にS-FILIP (fiber-like; 図1d上) 及びL-FILIP (punctate; 図1d下) の細胞局在を調べるため、FILIPのC末端にグリーン蛍光タンパク質 (GFP) が結合されたFILIPs-GFPを含む哺乳類動物由来の発現ベクター [pEGFP-N1 (CLONTECH社製)、pCAGGS (Invitrogen社製) 又はpBudCE4 (Invitrogen社製)] を、5% CO₂条件下の10%ウシ胎児血清 (FBS) を含むダルベッコ改変イーグル培地 (DMEM: Dulbecco's modified Eagle medium) において37℃で保持したCOS-7細胞に、トランスフェクションし、FILIPs-GFPを発現させ、digital cooled CCDカメラ (Hamamatsu Photonics社製) を備えたOLYMPUS IX-70顕微鏡により画像解析を行った (図1dのGFP)。また、上記FILIPsはF-アクチンと共存するかどうかを調べるために、上記COS-7細胞を4%のパラホルムアルデヒド/0.1Mのリン酸塩緩衝液 (PB) (pH 7.4) で10分間固定し、0.1%のトリトンX-100/リン酸塩緩衝生理食塩水 (PBS) で3分間浸透処理した後、ローダミン-ファロイジン (1:40; Molecular Probes社製) によりF-アクチンを染色し (図1dのphalloidin)、S-FILIP又はL-FILIPと、F-アクチンとの共存を調べてみた (図1dのmerged)。その結果を図1dに示す (参考写真1参照)。なお、図1d中のスケールバーは10 μ mを表す。このことから、GFPが結合されたS-FILIPは、一般的にアクチンフィラメントの末端部を除き、アクチンストレスフィラメントに沿って局在しており、F-アクチンとの共存が考えられた。一方、L-FILIPは細胞質において斑点状に分布しており、F-アクチンの局在とは異なっていた。

【0041】

また、上記GFPが結合したS-FILIP (図1e; 参考写真1参照) 又はL-FILIP (図1f; 参考写真1参照) を発現する細胞をランダムにそれぞれ50個抽出し、FILIPs-GFPの各発現分布パターンにおける細胞数を計測した。なお、かかる計測は4回行い、得られた結果を平均値 \pm S.E.Mとして求めた。この結果から、各局在パターンはFILIP分子の種類に大きく依存していることがわかった。次に、既知のアクチン結合ドメイン (S-FILIP

PのN末端領域)を含まない領域においてもF-アクチンと共存するかどうかについて調べてみた。S-FILIP Δ C-GFP (GFPが結合したC末端欠損S-FILIP)、FILIP Δ N (GFPが結合したN末端欠損FILIP)、又はGFPのみを上記と同様にCOS7細胞において発現させた結果(図1g; 参考写真1参照)、既知のアクチン結合ドメインが存在しないにも関わらず、S-FILIPはF-アクチンと共存することがわかった(図1g中央)。このことから、S-FILIP及びL-FILIPに共通するC末端半分(FILIP Δ N)は、F-アクチンとの共在に必要十分であることが明らかとなった。一方L-FILIPはF-アクチンとほとんど共在していなかったが、大部分の細胞の細胞質において斑点状に分布していた。さらに、L-FILIPを発現させるCOS-7細胞においてはアクチンストレスフィラメントはほとんど確認できなかった。なお、図1g中のスケールバーは20 μ mを示す。

【0042】

実施例2 (FILIPsとアクチン結合タンパク質フィラミン1との相互作用)

F-アクチンと関連するS-FILIP独特の局在性をさらに考察し、両分子を結びつける因子を解明するために、S-FILIPのC末端半分(bait)及びマウスE11の全胚ライブラリー(pre)を用い、酵母ツーハイブリッドスクリーニングを行った。なお、ツーハイブリッドスクリーニングは、Matchmaker Two-Hybrid system (CLONTECH社製)を使用し、FILIPsの共通C末端領域(S-FILIPの想定アミノ酸配列の508~965残基)をコードするcDNAを含むpAS2-1プラスミドベクターにより形質転換した酵母株PJ69-2Aに、あらかじめMatchmakerライブラリー(CLONTECH社製)に組み込んだE11マウス脳由来の全胚ライブラリーを形質転換し、S-FILIPのC末端半分とマウスE11の全胚ライブラリーとを掛け合わせた。その結果、 8×10^6 を超えるクローンをスクリーニングし、3つの選択マーカーにより17個のクローンを選択した。これらのクローンから、アクチンフィラメントに相互作用するタンパク質であり、等方性にF-アクチンと相互作用し、直交に配列し、また、F-アクチンネットワークの粘性及び剛性を増加させるフィラミン1をコードするクローンを同定した。

【0 0 4 3】

次に、L-F I L I P-G F P、S-F I L I P-G F P、G F PでタグされたS-F I L I PのN末端半分にG F Pが結合した融合タンパク質（S-F I L I P Δ C-G F P）、F I L I P sに共通のC末端半分にG F Pが結合した融合タンパク質（F I L I P Δ N-G F P）、又はG F Pのみを発現するC O S-7細胞から得た細胞溶解物〔2 0 mMのT r i s（p H 7. 5）、1 5 0 mMのN a C l、1 0 0 0 U／m lのD N a s e I、1 %のN P-4 0、1 mMのフェニルメタンスルホニルフルオリド、5 μ g／m lのアプロチニン、1. 5 μ MのペプスタチンA、2 μ Mのロイペプチンを含む緩衝液で可溶化したタンパク質溶液〕を、抗G F P抗体（CLONTECH社製）又は抗フィラミン1抗体（Chemicon社製）により免疫沈降させ、プローブとして抗フィラミン1抗体又は抗G F P抗体を用いて沈降したタンパク質を検出した。抗G F P抗体を用いた免疫沈降の結果を図2 aに、抗フィラミン1抗体を用いた免疫沈降の結果を図2 bに示す（参考写真2参照）。これらの結果から、完全長のF I L I P s又はC末端半분을有するS-F I L I Pと、フィラミン1との複合体形成が確認できた。

【0 0 4 4】

さらに、免疫細胞化学を実施するために、S-F I L I P（fiber-like；図2 c）又はL-F I L I P（punctate；図2 c）と、フィラミン1との共在を調べるために、実施例1記載の方法と同様にS-F I L I P-G F P又はL-F I L I P-G F PをC O S-7細胞にトランスフェクションし、かかる細胞を固定して浸透処理を行い、digital cooled CCDカメラ（Hamamatsu Photonics社製）を備えたOLYMPUS IX-70顕微鏡により画像解析を行った。なお、内因性のフィラミン1の発現は、上記細胞を浸透処理した後1 0 %のヤギ血清／P B Sで2 0 分間ブロックし、先ず抗フィラミン1抗体（1：2 0 0；Chemicon社製）共存下でインキュベーションして、続いて抗マウスI g-C y 3（1：4 0 0；Amersham-Pharmacia社製）共存下でインキュベートして染色した。これらの結果を図2 cに示す（参考写真2参照）。なお、図中の矢印は相互に共在するF I L I P s-G F P及びフィラミン1のシグナルを示し、図の上段及び中段中のスケールバーは1 0 μ mを、図の下段中のスケールバーは3 μ mを表す。その結果、フィラミン

1 が全て S-FILIP と共在するわけではないが、ほとんどの S-FILIP シグナルがフィラミン 1 と共存しているのが確認できた (図 2 c)。また、L-FILIP 発現細胞では、斑点状シグナルのおよそ半分が、フィラミン 1 の斑点状シグナルと共在しているのが確認できた。よって本発明者らは、これらの新規分子をフィラミン 1 相互作用タンパク質 (Filamin 1-interacting proteins)、FILIPs と命名した。

【0045】

実施例 3 (FILIPs によるフィラミン 1 の分解と、かかる分解による細胞移動能の低下)

フィラミン 1 は、種々の細胞の細胞移動に深く関与しているので (Science 255, 325-327, 1992)、FILIPs は恐らくフィラミン 1 を介して細胞移動を調節していると考えられる。そこで FILIPs を、フィラミン 1 はもつが FILIPs をもたない COS-7 細胞に導入して、FILIPs が細胞移動度に関与しているかどうかを調べた。プレーティング (1.88 cm^2 あたり約 1×10^4 細胞) の翌日、COS-7 細胞に S-FILIP-GFP (図 3 a 左)、L-FILIP-GFP (図 3 a 中)、又は GFP のみ (図 3 a 右) を含む発現ベクターをトランスフェクションし、36~48 時間後、10% ウシ胎児血清を含むダルベッコ改変イーグル培地を用い、IX-IBC 培養装置 (OLYMPUS 社製) を備えた IX-70 顕微鏡上に上記細胞を置いて低密度細胞条件下で培養し、120 分の間隔をおいて 2 回画像を解析し細胞移動度を調べた (図 3 a; 参考写真 3 参照) [なお、参考写真 3 a の GFP の画像 (緑色) は 120 分の間隔をおいて解析し、後から解析した画像が赤色に変化した後にその 2 枚の画像を 1 枚に統合した。]。また、図 3 a における細胞移動を定量するために、120 分の間隔において各細胞核 (S-FILIP-GFP では $n=20$ 、L-FILIP-GFP では $n=19$ 、GFP のみでは $n=18$) が移動した距離 (平均値 \pm s. e. m.) を各グループ毎に測定した (図 3 b; 参考写真 3 参照)。なお、図 3 a 中のスケールバーは $50 \mu\text{m}$ を表し、図 3 b の 2 回の画像解析において生じた核移動は、phase-contrast images も併用して定量した。これらの結果から、細胞が他の細胞を妨害することなく自由に移動できる低密度細胞条件下においても、F I

L I P s - G F P を発現する細胞の移動度は、G F P のみを発現する細胞と比べ低下しているのが確認できた。

【0046】

次に、葉状仮足形成に対する F I L I P s の影響を解明するため、創傷治癒分析 (Wound healing assay) を行った。オーバーコンフルエント状態の C O S - 7 細胞に F I L I P s - G F P 又は G F P のいずれかを含む発現ベクターをトランスフェクションして、36 ~ 48 時間後に細胞間に損傷を形成させ (図 3 b)、さらに 3 時間培養した後、かかる細胞を固定し、ローダミン-ファロイジンで染色した。染色後、細胞間の損傷端部を観察し、葉状仮足が形成されたかどうかを確認した。その結果を図 3 c に示す (参考写真 3 参照)。なお、図中の矢印は S - 及び L - F I L I P - G F P 発現細胞における損傷端部を、矢頭は F I L I P s を発現しない近隣細胞をそれぞれ示し、スケールバーは 50 μ m を意味する。また、損傷を形成した上記 C O S - 7 細胞を 50 個ランダムに抽出し、その中から損傷端部に葉状仮足を形成し、かかる領域に緑色の G F P シグナル (F I L I P s - G F P 又は G F P 単独) が見られる細胞の数を数えた。これらの結果、オーバーコンフルエント状態での静止細胞のほとんどは、隣接細胞の移動にตอบสนองして葉状仮足 (sheet-like processes) を形成するのが確認できた。また、図 3 c に示されているように、S - 及び L - F I L I P - G F P 発現細胞は、F I L I P s を発現しない細胞と比べ、損傷端部において葉状仮足を形成するものはほとんど見られなかった。G F P を発現する細胞 (対照) では、損傷端部において葉状仮足の形成率は 68 % だったのに対し、S - 及び L - F I L I P - G F P を発現する細胞の葉状仮足形成率は、それぞれ 28 %、及び 4 % であった。これらのことから、F I L I P s は葉状仮足形成及び細胞移動を抑制することが示唆され、F I L I P s はフィラミン 1 の機能に対して阻害効果を有すると考えられる。

【0047】

さらに、2つのプロモーターを有する発現ベクターを用いて、組換え F I L I P s と組換えフィラミン 1 を C O S - 7 細胞内に同時に発現させ、フィラミン 1 に対する F I L I P s の阻害効果における分子機構を調べた。図 3 d に示すよう

に、HAでタグされたF i l a m i n 1 c D N A (H A - F i l a m i n 1) とG F P c D N Aの間にI R E S (internal ribosomal entry site) 配列を挿入し、CMVプロモーター (p) によってフィラミン1とG F Pが転写され、また、F I L I P sはE F - 1 α プロモーター (p') により転写され発現できるように哺乳動物細胞用発現ベクター (pBudCE4; インビトロジェン社製) に組み込み、C O S - 7細胞にトランスフェクションした。その後、実施例1と同様の条件に加えて50 μ Mのカルペプチン存在下又は非存在下で培養し、H A - F i l a m i n 1とG F Pの発現量をS D S - P A G E法により確認した。なお、H A - F i l a m i n 1及びG F Pは、かかる細胞の同一m R N Aから翻訳されているのを確認にし、S - F I L I P (S) 又はL - F I L I P (L) の非存在下／存在下でC O S - 7細胞において発現するH A - F i l a m i n 1の相対量は、G F P発現量に基づいて測定した(組換えフィラミン1とG F Pとの相対量は、F I L I P s非存在下で4.7、S - F I L I P存在下で1.8であった)。これらの結果を図3 dに示す(参考写真3参照)。このことから、フィラミン1の発現量はF I L I P s存在下、特にL - F I L I Pの存在下で低下することがわかった。これはH A - フィラミン1及びG F Pのm R N A存在下では、H A - F i l a m i n 1タンパク質がほとんど存在しないことを示している。しかし、かかる効果はプロテアーゼ阻害剤であるカルペプチン存在下により消失することから、F I L I P sがフィラミン1の分解を誘導することが示唆された。

【0048】

また、実施例2記載の方法と同様にL - F I L I P - G F P発現C O S - 7細胞を作製し、フィラミン1に対する免疫反応性を調べてみた。その結果を図3 eに示す(参考写真3参照)。なお、図中の矢印はL - F I L I P - G F P発現C O S - 7細胞を示し、図中のスケールバーは25 μ mを表す。その結果、L - F I L I P - G F P発現C O S - 7細胞においては、F I L I Pを発現しない隣接した細胞と比し、特に内因性フィラミン1の量が顕著に低下していた。このことから、L - F I L I P - G F P発現C O S - 7細胞は、フィラミン1に対し低い免疫反応性を示すことがわかった。また、S - F I L I Pに比しL - F I L I Pの方が、フィラミン1を分解するにあたってより高い活性を示すことが明らかに

なった。すなわち、S-FILIPはフィラミン1をあまり分解しないゆえに、細胞におけるほとんどのS-FILIPがフィラミン1及びF-アクチンと共存するとはいえ、L-FILIP発現COS-7細胞において観察されるF-アクチンの斑点状分布は、S-FILIP発現細胞のほんの一部でも観察された。さらに、FILIPsと会合するフィラミン1タンパク質の分解の誘導は、図2cに示されるようにFILIPs（特にL-FILIP）と共存するフィラミン1に対する低い免疫反応性を引き起こす原因の一つであると考えられる。

【0049】

実施例4（新皮質の形成におけるFILIPsによる脳室帯からの細胞移動の調節）

COS-7細胞に導入されたFILIPsが、フィラミン1分解を誘導するだけでなく細胞移動に対し阻害効果を示し、またフィラミン1遺伝子に変異すると、変異の影響を受けた分裂細胞が脳室帯に滞留し、ヒト皮質の奇形を引き起こす（Neuron 16, 77-87, 1996、Neuron 21, 1315-1325, 1998）ことから、FILIPsは、新皮質形成における細胞移動を制御する上で中枢の役割を担っていると考えられる。そこで、インビボでの神経細胞移動におけるFILIPsの役割を解明するために、プラスミドDNA（S-FLIPS-GFP cDNA、L-FLIPS-GFP cDNA、又はGFP cDNA）をE18ラットの脳の側脳室に投与し、square-pulse electroporator（BEX社製）により電気パルスを送ることにより、脳室帯細胞にかかるプラスミドDNAを誘導した。上記E18ラットの脳を冠状にマイクロームで200 μ mに切り、皮質の背面部分を切開・摘出し、コラーゲンでコーティングした膜（Transwell-COL, Costar-Corning）上で、10%のFBS及びN2サプリメントを含むDMEM/F12培地を用いて4日間培養した。培養後、上記得られた皮質切片を4%のパラホルムアルデヒド/0.1MのPB（pH 7.4）で固定し、Zeiss LSM510 laser-scanning confocal microscope（Zeiss社製）により画像解析を行った（図4a；参考写真4参照）。なお、図4a中の各右図は左図における枠内の拡大図を、白い点は上記切片の端を、Pは柔膜表面を、Vは側脳室をそれぞれ示し、図4a中のスケールバーは200 μ m（左図）と100 μ m（右図）を意味する。また、GFP又

は F I L I P s - G F P に対する各細胞の移動度は、培養 4 日目の皮質の各場所 [皮質を側脳室 (V S) から柔膜表面 (P S) にかけて 5 等分した。] における細胞数を定量することにより求めた (図 4 b ; 参考写真 4 参照)。なお、S - F I L I P - G F P の値は 3 つの切片から、L - F I L I P - G F P の値は 5 つの切片からそれぞれ求め、平均値 \pm s . e . m . として求めた。

【0050】

上記のことから、対照としての G F P 発現細胞 (G F P) においては、脳室帯に存在する多くの標識化細胞が軟膜表面にむけて移動しているのが確認できた。これらの細胞は、紡錘形をしており、大脳皮質放射状方向に伸びる、リーディング (leading) プロセス及びトレイリング (trailing) プロセスを有していた (Neurosci. Res. (Suppl.) 24, S18, 2000)。これに対して、S - 又は L - F I L I P - G F P 発現細胞の形状及び移動度は G F P 発現細胞のものと大きく異なり、これらの発現細胞の形状は丸く、長く放射状に広がっておらず脳室帯近辺に留まっていたほとんど移動していなかった。脳室帯における F I L I P s の効果は C O S - 7 細胞の効果と整合していた。なお、G F P 又は S - F I L I P - G F P と比し、L - F I L I P - G F P を発現する細胞は少なかった。また、L - F I L I P - G F P を発現する細胞の数が培養しても有意な変化を示さなかった。これらのことは、上記トランスフェクション又は翻訳の効率が低いことに起因していると思われる。

【0051】

次に、ラット新皮質形成における L - 及び S - F I L I P の個体発生の発現プロフィールを、抗 F I L I P 抗体を用いてイムノブロット法により分析した。その結果を図 4 c に示す (参考写真 4 参照)。なお、上記抗 F I L I P 抗体 (ポリクローナル抗 F I L I P 抗体) は、S - F I L I P のアミノ酸配列 892 ~ 909 残基に相当する合成ペプチドで免疫したウサギを用いて、文献 (J. Neurochem. 75, 1-8, 2000) 記載の方法により調製した。この結果から、皮質形成の過程においては、S - F I L I P よりも L - F I L I P の方が顕著に確認できた。S - F I L I P と L - F I L I P の役割は一見似ているが、L - F I L I P の高レベルで発現し、フィラミン 1 分解に対して高い誘導能を示すことから、新皮質の

形成において L-F I L I P はフィラミン 1 の主要なパートナーであることが明らかである。また、f i l i p s mRNA の発現は E 1 8 において低く、既に転写された F I L I P タンパク質が十分に滞在していると考えられる。

【0052】

f i l i p s が脳室帯において発現されることから、F I L I P s がフィラミン 1 遺伝子と相互作用し、脳室帯で分解を誘導すると考えられる。そこで、E 1 2 ラットの皮質の溶解物 [20 mM の T r i s (p H 7. 5)、150 mM の N a C l、1000 U / m l の D N a s e I、1 % の N P - 4 0、1 mM のフェニルメタンスルホニルフルオリド、5 μ g / m l のアプロチニン、1. 5 μ M のペプスタチン A、2 μ M のロイペプチンを含む緩衝液で可溶化したタンパク質溶液] を、抗フィラミン 1 抗体又は抗 c - M y c 抗体 (Santa Cruz 社製) により免疫沈降させ、プローブとして抗 F I L I P 抗体を用いタンパク質を検出した。結果を図 4 d に示す (参考写真 4 参照)。このことから、L-F I L I P は、E 1 2 ラットの新皮質の溶解物から検出されたが、S-F I L I P はほとんど検出されなかった (図 4 d のライン 1)。また、同一溶解物中において、L-F I L I P は抗フィラミン 1 抗体と共免疫沈降していたことから (図 4 d のライン 3)、内因性 F I L I P (主に L-F I L I P) が内因性フィラミン 1 と相互作用をしていることが明らかとなった。しかし、抗 c - M y c 抗体 (コントロール) は何らポジティブなシグナルを示さなかった (図 4 d のライン 2)。

【0053】

ヒト胎生期脳の間脳帯及び皮質板における移動中及び移動後の神経細胞において、フィラミン 1 タンパク質が発現することは知られている (Neuron 21, 1315-1325, 1998)。そこで、インサイチューハイブリダイゼーション組織化学法により、ラット大脳皮質におけるフィラミン 1 の発現を調べてみた。結果を図 4 e に示す (参考写真 4 参照)。なお、図中の C P は皮質板を、S は頭蓋を、V は側脳室を、V Z は脳室帯をそれぞれ示し、スケールバーは 100 μ m を表す。この結果から、形成中の皮質全体にわたってフィラミン 1 遺伝子の発現が確認でき、特に脳室帯において高発現しているのが確認できた。また、上記ラット大脳皮質におけるフィラミン 1 の発現を免疫組織化学法により調べてみた。E 1 6 ラットか

ら調製した大脳皮質の凍結切片をZamboni溶液[0.1MのPB(pH7.4)、2%のパラホルムアルデヒド、0.21%のピクリン酸]で固定した後風乾し、0.2%のトリトンX-100及び0.5%のウシ血清アルブミンを含むPBSで30分間浸透処理を行い、抗フィラミン抗体(1:40;Sigma社製)共存下でインキュベーションし、続いてフルオレセインが結合した抗ヤギIgG抗体(1:100;Jackson ImmunoResearch Laboratories製)共存下でインキュベーションし染色した。結果を図4fに示す(参考写真4参照)。なお、図中のCPは皮質板を、Vは側脳室を、VZは脳室帯をそれぞれ示し、スケールバーは100 μ mを表す。このことから、脳室帯細胞はフィラミン1遺伝子を高度に発現させる一方で、脳室帯におけるフィラミン様免疫反応性は、皮質板及び中間体で観察された反応に比べ低いことが明らかになった。フィラミン1は細胞移動に深く関与しているので(Science 255, 325-7, 1992、Neuron 21, 1315-25, 1998)、脳室帯におけるFILIPsを介したフィラミン1の分解は、移動開始の制御において重要なプロセスであると考えられる。かかるプロセスは、皮質形成において脳室帯から放射状に細胞移動するプロセスに対する阻害的制御の独特な分子機構である。

【0054】

【発明の効果】

本発明の細胞移動調節及び細胞死調節機能を有するタンパク質やそれをコードするDNAは、細胞骨格タンパクの調節分子であることから、細胞移動能のコントロール、細胞死のコントロールに応用することができ、また、癌・腫瘍の転移抑制剤又は移植治療用細胞移動調節剤等に応用することができる。上記細胞移動調節及び細胞死調節機能を有するタンパク質やそれをコードするDNA等を用いることにより、細胞移動及び／又は細胞死の制御や、細胞移動調節及び／又は細胞死調節機能を促進又は抑制する物質、本件タンパク質・ペプチドの発現促進若しくは抑制物質等をスクリーニングすることなどもできる。また、本件タンパク質・ペプチド等を用いることにより、癌・腫瘍の転移、神経細胞等の細胞移動などのメカニズムを明らかにすることができる。

【 0 0 5 5 】

【配列表】

SEQUENCE LISTING

<110> JAPAN SCIENCE AND TECHNOLOGY CORPORATION

<120> Proteins with functions to regulate cell-migration and
cell-death

<130> A011P40

<140>

<141>

<160> 4

<170> PatentIn Ver. 2.1

<210> 1

<211> 4364

<212> DNA

<213> Rattus norvegicus

<220>

<221> CDS

<222> (75)..(3710)

<400> 1

ccactgggtt cttcaaggga taaaccagcg gcgaaagaac acaccattgg ttaaggagtc 60

gacaacaggt ggga atg aga tca cga aat caa ggt gga gaa agt tca tct 110

Met Arg Ser Arg Asn Gln Gly Gly Glu Ser Ser Ser

1

5

10

aac ggg cat gtc tcc tgc ccc aag tcc tcc atc atc agc agt gat ggt 158

Asn Gly His Val Ser Cys Pro Lys Ser Ser Ile Ile Ser Ser Asp Gly

15

20

25

ggt aag ggc ccc tca gaa gat gca aaa aag aac aag gcc aat cgg aag 206

Gly Lys Gly Pro Ser Glu Asp Ala Lys Lys Asn Lys Ala Asn Arg Lys

30

35

40

gag gag gat gtc atg gct tcc gga act atc aaa agg cac ctc aaa cca 254

Glu Glu Asp Val Met Ala Ser Gly Thr Ile Lys Arg His Leu Lys Pro

45

50

55

60

tct gga gaa agt gag aaa aag act aag aag tct gtg gag tta tcc aag 302

Ser Gly Glu Ser Glu Lys Lys Thr Lys Lys Ser Val Glu Leu Ser Lys

65

70

75

gag gac ctc atc cag ctc ctg agt atc atg gaa ggg gag ttg cag gct 350

Glu Asp Leu Ile Gln Leu Leu Ser Ile Met Glu Gly Glu Leu Gln Ala

80

85

90

cga gaa gat gtc atc cac atg ctg agg aca gag aaa acc aag ccc gag 398

Arg Glu Asp Val Ile His Met Leu Arg Thr Glu Lys Thr Lys Pro Glu

95

100

105

gtt ctg gag gca cac tat gga tct gca gaa cct gag aaa gtg ctt cgg 446

Val Leu Glu Ala His Tyr Gly Ser Ala Glu Pro Glu Lys Val Leu Arg

110

115

120

gtc ctg cac cga gat gcc atc ctt gct caa gag aag tcc ata gga gaa 494

Val Leu His Arg Asp Ala Ile Leu Ala Gln Glu Lys Ser Ile Gly Glu

125

130

135

140

gac gtc tat gag aaa cct atc tca gag ctg gac aga ctg gag gaa aag 542

Asp Val Tyr Glu Lys Pro Ile Ser Glu Leu Asp Arg Leu Glu Glu Lys

145

150

155

cag aag gag acg tac cgc cgc atg cta gag cag ctg ctg ctg gct gag 590

Gln Lys Glu Thr Tyr Arg Arg Met Leu Glu Gln Leu Leu Leu Ala Glu

160

165

170

aag tgt cac agg cgc acc gtg tac gag ctg gag aac gag aag cac aag 638

Lys Cys His Arg Arg Thr Val Tyr Glu Leu Glu Asn Glu Lys His Lys

175

180

185

cac act gac tac atg aac aag agc gac gac ttc acc aac ctg ctg gag 686

His Thr Asp Tyr Met Asn Lys Ser Asp Asp Phe Thr Asn Leu Leu Glu

190

195

200

cag gag cga gag agg ttg aaa aag ctc ctt gaa caa gaa aaa gct tac 734

Gln Glu Arg Glu Arg Leu Lys Lys Leu Leu Glu Gln Glu Lys Ala Tyr

205

210

215

220

caa gcc cgc aaa gaa aag gaa aac gct aag cgg ctc aac aaa ctt cga 782

Gln Ala Arg Lys Glu Lys Glu Asn Ala Lys Arg Leu Asn Lys Leu Arg

225

230

235

gat gag ctt gtg aag ctc aag tcc ttc gcc ctc atg ttg gtg gac gag 830

Asp Glu Leu Val Lys Leu Lys Ser Phe Ala Leu Met Leu Val Asp Glu

240

245

250

agg cag atg cac atc gag caa ctg ggc ctg cag agt cag aaa gtc cag 878

Arg Gln Met His Ile Glu Gln Leu Gly Leu Gln Ser Gln Lys Val Gln

255

260

265

gac ctc act cag aag ctg agg gag gag gaa gaa aaa ctc aaa gcg gtc 926

Asp Leu Thr Gln Lys Leu Arg Glu Glu Glu Glu Lys Leu Lys Ala Val

270

275

280

act tac aaa tcc aag gaa gac cgc cag aag ctg ctc aag tta gaa gtg 974

Thr Tyr Lys Ser Lys Glu Asp Arg Gln Lys Leu Leu Lys Leu Glu Val

285

290

295

300

gac ttc gaa cac aag gcc tcg agg ttt tcc cag gag cac gaa gag atg 1022

Asp Phe Glu His Lys Ala Ser Arg Phe Ser Gln Glu His Glu Glu Met

305

310

315

aac gcc aaa ttg gcg aat caa gaa tct cac aac cgg caa ctt cga ctc 1070

Asn Ala Lys Leu Ala Asn Gln Glu Ser His Asn Arg Gln Leu Arg Leu

320

325

330

aaa ctg gtt ggc tta tcg caa agg att gag gag ctg gaa gag acc aat 1118

Lys Leu Val Gly Leu Ser Gln Arg Ile Glu Glu Leu Glu Glu Thr Asn
335 340 345

aaa agc ctt cag aag gca gag gaa gag ctc cag gag ctg aga gag aaa 1166
Lys Ser Leu Gln Lys Ala Glu Glu Glu Leu Gln Glu Leu Arg Glu Lys
350 355 360

att gcc aaa ggg gaa tgt gga aac tcc agt ctc atg gcg gaa gtg gag 1214
Ile Ala Lys Gly Glu Cys Gly Asn Ser Ser Leu Met Ala Glu Val Glu
365 370 375 380

agt ctg cgc aag cgc gtg ctt gag atg gag ggc aag gat gaa gag atc 1262
Ser Leu Arg Lys Arg Val Leu Glu Met Glu Gly Lys Asp Glu Glu Ile
385 390 395

acg aag acc gag gcc cag tgc cgg gag ctg aag aag aag ctc caa gag 1310
Thr Lys Thr Glu Ala Gln Cys Arg Glu Leu Lys Lys Lys Leu Gln Glu
400 405 410

gaa gaa cac cac agc aag gaa ctt aga cta gaa gtg gag aag ctg cag 1358
Glu Glu His His Ser Lys Glu Leu Arg Leu Glu Val Glu Lys Leu Gln
415 420 425

aag agg atg tct gag ctg gag aag ctg gag gaa gcg ttc agc cgg agt 1406
Lys Arg Met Ser Glu Leu Glu Lys Leu Glu Glu Ala Phe Ser Arg Ser
430 435 440

aag tcg gaa tgc acc cag ctc cat ctg aac ctg gag aag gag aag aac 1454
Lys Ser Glu Cys Thr Gln Leu His Leu Asn Leu Glu Lys Glu Lys Asn

445 450 455 460

cta acc aaa gac ctg ctg aac gag ctg gag gtg gtc aag agt cga gtt 1502
Leu Thr Lys Asp Leu Leu Asn Glu Leu Glu Val Val Lys Ser Arg Val

 465 470 475

aaa gaa ctc gaa tgc tcc gag agt aga ctg gag aag gcc gag tta agc 1550
Lys Glu Leu Glu Cys Ser Glu Ser Arg Leu Glu Lys Ala Glu Leu Ser

 480 485 490

ctc aaa gat gac ctt aca aag ctg aag tcc ttc act gtg atg ctg gtg 1598
Leu Lys Asp Asp Leu Thr Lys Leu Lys Ser Phe Thr Val Met Leu Val

 495 500 505

gat gag agg aaa aat atg atg gag aaa ata aag caa gaa gag agg aaa 1646
Asp Glu Arg Lys Asn Met Met Glu Lys Ile Lys Gln Glu Glu Arg Lys

 510 515 520

gtg gat ggg ttg aat aaa aac ttt aag gtg gag cag gga aaa gtc atg 1694
Val Asp Gly Leu Asn Lys Asn Phe Lys Val Glu Gln Gly Lys Val Met

525 530 535 540

gat gtg acg gaa aag cta atc gag gaa agc aag aag ctt tta aaa ctc 1742
Asp Val Thr Glu Lys Leu Ile Glu Glu Ser Lys Lys Leu Leu Lys Leu

 545 550 555

aaa tct gaa atg gag gaa aag gag tac agt ctg aca aag gag agg gat 1790
Lys Ser Glu Met Glu Glu Lys Glu Tyr Ser Leu Thr Lys Glu Arg Asp

 560 565 570

gag ctg atg ggt aaa ctg agg agc gaa gaa gaa agg tcc tgt gaa ctg 1838

Glu Leu Met Gly Lys Leu Arg Ser Glu Glu Glu Arg Ser Cys Glu Leu

575

580

585

agc tgc agt gta gac tta cta aag aag cgg ctt gat ggc ata gag gag 1886

Ser Cys Ser Val Asp Leu Leu Lys Lys Arg Leu Asp Gly Ile Glu Glu

590

595

600

gta gaa agg gaa ata aac cga ggt agg tcg tgc aag ggg tct gag ttc 1934

Val Glu Arg Glu Ile Asn Arg Gly Arg Ser Cys Lys Gly Ser Glu Phe

605

610

615

620

acc tgc ccg gaa gac aat aag atc aga gaa cta acg ctt gaa atc gag 1982

Thr Cys Pro Glu Asp Asn Lys Ile Arg Glu Leu Thr Leu Glu Ile Glu

625

630

635

aga ctg aag aaa cgg ctc cag cag ttg gag gtg gtg gag ggg gac ttg 2030

Arg Leu Lys Lys Arg Leu Gln Gln Leu Glu Val Val Glu Gly Asp Leu

640

645

650

atg aag acc gag gac gaa tat gac cag ttg gag cag aag ttc aga acc 2078

Met Lys Thr Glu Asp Glu Tyr Asp Gln Leu Glu Gln Lys Phe Arg Thr

655

660

665

gag cag gat aag gca aac ttc ctc tcc cag cag ctc gag gaa atc aaa 2126

Glu Gln Asp Lys Ala Asn Phe Leu Ser Gln Gln Leu Glu Glu Ile Lys

670

675

680

cac caa atg gcc aag cac aaa gcc ata gag aaa ggg gag gcc gtg agc 2174
His Gln Met Ala Lys His Lys Ala Ile Glu Lys Gly Glu Ala Val Ser
685 690 695 700

cag gaa gcc gaa ctg cga cac agg ttt cgg ctg gag gag gct aaa agt 2222
Gln Glu Ala Glu Leu Arg His Arg Phe Arg Leu Glu Glu Ala Lys Ser
705 710 715

cgt gat tta cag gcc gag gtg cag gct ctc aag gag aag atc cac gag 2270
Arg Asp Leu Gln Ala Glu Val Gln Ala Leu Lys Glu Lys Ile His Glu
720 725 730

ctg atg aac aag gaa gac cag ctg tct cag ctc caa gtc gac tat tcg 2318
Leu Met Asn Lys Glu Asp Gln Leu Ser Gln Leu Gln Val Asp Tyr Ser
735 740 745

gtc ctt cag caa aga ttt atg gaa gaa gaa act aag aac aag aac atg 2366
Val Leu Gln Gln Arg Phe Met Glu Glu Glu Thr Lys Asn Lys Asn Met
750 755 760

ggg agg gag gtc ctc aat ctg acc aag gag cta gag ctt tcc aag cgc 2414
Gly Arg Glu Val Leu Asn Leu Thr Lys Glu Leu Glu Leu Ser Lys Arg
765 770 775 780

tac agc cga gct ctc agg ccg agt ggg aac ggc cga agg atg gtg gac 2462
Tyr Ser Arg Ala Leu Arg Pro Ser Gly Asn Gly Arg Arg Met Val Asp
785 790 795

gtg cct gtg gcc tcc act ggg gtg cag acc gag gcg gtg tgc ggg gat 2510

Val Pro Val Ala Ser Thr Gly Val Gln Thr Glu Ala Val Cys Gly Asp

800

805

810

gct gcg gag gag gag acc ccg gct gtg ttc att cgc aaa tcc ttc cag 2558

Ala Ala Glu Glu Glu Thr Pro Ala Val Phe Ile Arg Lys Ser Phe Gln

815

820

825

gag gaa aat cac atc atg agt aat ctt cga cag gta ggc ctg aag aaa 2606

Glu Glu Asn His Ile Met Ser Asn Leu Arg Gln Val Gly Leu Lys Lys

830

835

840

ccc atg gaa cgg tcc tcg gtc ctc gac agg tat ccc cca gca gcg aat 2654

Pro Met Glu Arg Ser Ser Val Leu Asp Arg Tyr Pro Pro Ala Ala Asn

845

850

855

860

gag ctc acc atg agg aag tct tgg att cct tgg atg aga aaa aga gaa 2702

Glu Leu Thr Met Arg Lys Ser Trp Ile Pro Trp Met Arg Lys Arg Glu

865

870

875

aac ggt cct tcc act ccg cag gag aaa ggg ccc agg cca aac cag ggt 2750

Asn Gly Pro Ser Thr Pro Gln Glu Lys Gly Pro Arg Pro Asn Gln Gly

880

885

890

gca ggg cac ccc ggg gag ctg gtc cta gca cca aag cag ggc cag ccc 2798

Ala Gly His Pro Gly Glu Leu Val Leu Ala Pro Lys Gln Gly Gln Pro

895

900

905

cta cac atc cgt gtg aca cca gat cat gag aac agc act gcc acc ctg 2846

Leu His Ile Arg Val Thr Pro Asp His Glu Asn Ser Thr Ala Thr Leu

910	915	920	
gag atc aca agc ccc aca tct gaa gag ttt ttc tct agt acc acc gtc			2894
Glu Ile Thr Ser Pro Thr Ser Glu Glu Phe Phe Ser Ser Thr Thr Val			
925	930	935	940
att cct acc tta ggc aac cag aaa cca aga ata acc att att cca tca			2942
Ile Pro Thr Leu Gly Asn Gln Lys Pro Arg Ile Thr Ile Ile Pro Ser			
	945	950	955
ccc aat gtc atg tcg caa aag ccc aaa agt gca gat cct act ctc ggc			2990
Pro Asn Val Met Ser Gln Lys Pro Lys Ser Ala Asp Pro Thr Leu Gly			
	960	965	970
cca gaa cga gcc atg tcc cct gtc acg att act act att tcc aga gag			3038
Pro Glu Arg Ala Met Ser Pro Val Thr Ile Thr Thr Ile Ser Arg Glu			
	975	980	985
aag agc ccg gaa ggt gga agg agc gcc ttt gcc gac agg cct gca tcc			3086
Lys Ser Pro Glu Gly Gly Arg Ser Ala Phe Ala Asp Arg Pro Ala Ser			
990	995	1000	
ccc atc caa atc atg acg gtg tca aca tct gca gct ccc act gaa atc			3134
Pro Ile Gln Ile Met Thr Val Ser Thr Ser Ala Ala Pro Thr Glu Ile			
1005	1010	1015	1020
gct gtc tct cct gaa tct cag gaa gtg cct atg gga agg act atc ctc			3182
Ala Val Ser Pro Glu Ser Gln Glu Val Pro Met Gly Arg Thr Ile Leu			
	1025	1030	1035

aaa gtc acc ccg gaa aaa caa act gtt cca gcc ccc gtg cgg aag tac 3230
Lys Val Thr Pro Glu Lys Gln Thr Val Pro Ala Pro Val Arg Lys Tyr

1040

1045

1050

aac tcc aat gct aat atc atc acc acg gaa gac aat aaa att cac att 3278
Asn Ser Asn Ala Asn Ile Ile Thr Thr Glu Asp Asn Lys Ile His Ile

1055

1060

1065

cac ctg ggt tct cag ttt aag cga tct cct ggg cct gcc gct gaa ggc 3326
His Leu Gly Ser Gln Phe Lys Arg Ser Pro Gly Pro Ala Ala Glu Gly

1070

1075

1080

gtg agc cca gtt atc acc gtc cgg cct gtc aac gtg aca gcg gag aag 3374
Val Ser Pro Val Ile Thr Val Arg Pro Val Asn Val Thr Ala Glu Lys
1085 1090 1095 1100

gag gtt tct aca ggc aca gtc ctt cgc tct ccc agg aac cac ctc tct 3422
Glu Val Ser Thr Gly Thr Val Leu Arg Ser Pro Arg Asn His Leu Ser

1105

1110

1115

tca aga ccc ggt gct agc aaa gtg acc agc act ata act ata acc ccg 3470
Ser Arg Pro Gly Ala Ser Lys Val Thr Ser Thr Ile Thr Ile Thr Pro

1120

1125

1130

gtc aca acg tca tcc aca cga gga acc caa tca gtg tca gga caa gat 3518
Val Thr Thr Ser Ser Thr Arg Gly Thr Gln Ser Val Ser Gly Gln Asp

1135

1140

1145

ggg tca tct cag cgg cct acc ccc acc cgc att cct atg tca aaa ggt 3566
Gly Ser Ser Gln Arg Pro Thr Pro Thr Arg Ile Pro Met Ser Lys Gly
1150 1155 1160

atg aaa gct gga aag cca gta gtg gca gcc tca gga gca gga aat ctg 3614
Met Lys Ala Gly Lys Pro Val Val Ala Ala Ser Gly Ala Gly Asn Leu
1165 1170 1175 1180

acc aaa ttc cag cct cga gct gag act cag tct atg aaa ata gag ctg 3662
Thr Lys Phe Gln Pro Arg Ala Glu Thr Gln Ser Met Lys Ile Glu Leu
1185 1190 1195

aag aaa tct gca gcc agc agc act gcc tct ctt gga ggg ggg aag ggc 3710
Lys Lys Ser Ala Ala Ser Ser Thr Ala Ser Leu Gly Gly Gly Lys Gly
1200 1205 1210

tgagggcagt ggctaagggg gtatgttgta aggatgctac tgctgcagtg gaaacaaacc 3770

ttcctctgtg ccaacccttt ccttgtagta ctaatttaag ttttaaatat cttgtttata 3830

aaataacat ttaatagcca tgcaccccc tccattttg tgcattctgtt tcaatgcagg 3890

ggaatagaat taattagcag aatttctgtt tgctgaatgt tctgttgaag atgttggtcc 3950

agttcagttt tacttctagc atgtggcccc attcaaggta gctcacgagt tgtgaagccc 4010

tcaatatcgt caccggagag atttgaggac cacattacat atgctcccaa aggctggctc 4070

ccaattttcc taattgtaag ccaactttaa tagactcagt tctgtgattt ttttttccaa 4130

aaaaaaaata ttttgaaata ggacagagtt taacagttgt cattttgcac tatcaagcca 4190

tgagtttgat atatgggtta taagaaaaga atactttcag agctatcaca gggctctctaa 4250

acttttggaa aaacaaaagc ccctaatatg acctcaggaa acaatttgaa catgaaataa 4310

aatggaaatg aactgtggaa tcttaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaa 4364

<210> 2

<211> 1212

<212> PRT

<213> Rattus norvegicus

<400> 2

Met Arg Ser Arg Asn Gln Gly Gly Glu Ser Ser Ser Asn Gly His Val

1 5 10 15

Ser Cys Pro Lys Ser Ser Ile Ile Ser Ser Asp Gly Gly Lys Gly Pro

20 25 30

Ser Glu Asp Ala Lys Lys Asn Lys Ala Asn Arg Lys Glu Glu Asp Val

35 40 45

Met Ala Ser Gly Thr Ile Lys Arg His Leu Lys Pro Ser Gly Glu Ser

50 55 60

Glu Lys Lys Thr Lys Lys Ser Val Glu Leu Ser Lys Glu Asp Leu Ile

65	70	75	80
Gln Leu Leu Ser Ile Met Glu Gly Glu Leu Gln Ala Arg Glu Asp Val			
	85	90	95
Ile His Met Leu Arg Thr Glu Lys Thr Lys Pro Glu Val Leu Glu Ala			
100	105	110	
His Tyr Gly Ser Ala Glu Pro Glu Lys Val Leu Arg Val Leu His Arg			
115	120	125	
Asp Ala Ile Leu Ala Gln Glu Lys Ser Ile Gly Glu Asp Val Tyr Glu			
130	135	140	
Lys Pro Ile Ser Glu Leu Asp Arg Leu Glu Glu Lys Gln Lys Glu Thr			
145	150	155	160
Tyr Arg Arg Met Leu Glu Gln Leu Leu Leu Ala Glu Lys Cys His Arg			
165	170	175	
Arg Thr Val Tyr Glu Leu Glu Asn Glu Lys His Lys His Thr Asp Tyr			
180	185	190	
Met Asn Lys Ser Asp Asp Phe Thr Asn Leu Leu Glu Gln Glu Arg Glu			
195	200	205	
Arg Leu Lys Lys Leu Leu Glu Gln Glu Lys Ala Tyr Gln Ala Arg Lys			
210	215	220	

Glu Lys Glu Asn Ala Lys Arg Leu Asn Lys Leu Arg Asp Glu Leu Val
225 230 235 240

Lys Leu Lys Ser Phe Ala Leu Met Leu Val Asp Glu Arg Gln Met His
245 250 255

Ile Glu Gln Leu Gly Leu Gln Ser Gln Lys Val Gln Asp Leu Thr Gln
260 265 270

Lys Leu Arg Glu Glu Glu Glu Lys Leu Lys Ala Val Thr Tyr Lys Ser
275 280 285

Lys Glu Asp Arg Gln Lys Leu Leu Lys Leu Glu Val Asp Phe Glu His
290 295 300

Lys Ala Ser Arg Phe Ser Gln Glu His Glu Glu Met Asn Ala Lys Leu
305 310 315 320

Ala Asn Gln Glu Ser His Asn Arg Gln Leu Arg Leu Lys Leu Val Gly
325 330 335

Leu Ser Gln Arg Ile Glu Glu Leu Glu Glu Thr Asn Lys Ser Leu Gln
340 345 350

Lys Ala Glu Glu Glu Leu Gln Glu Leu Arg Glu Lys Ile Ala Lys Gly
355 360 365

Glu Cys Gly Asn Ser Ser Leu Met Ala Glu Val Glu Ser Leu Arg Lys
370 375 380

Arg Val Leu Glu Met Glu Gly Lys Asp Glu Glu Ile Thr Lys Thr Glu
385 390 395 400

Ala Gln Cys Arg Glu Leu Lys Lys Lys Leu Gln Glu Glu Glu His His
405 410 415

Ser Lys Glu Leu Arg Leu Glu Val Glu Lys Leu Gln Lys Arg Met Ser
420 425 430

Glu Leu Glu Lys Leu Glu Glu Ala Phe Ser Arg Ser Lys Ser Glu Cys
435 440 445

Thr Gln Leu His Leu Asn Leu Glu Lys Glu Lys Asn Leu Thr Lys Asp
450 455 460

Leu Leu Asn Glu Leu Glu Val Val Lys Ser Arg Val Lys Glu Leu Glu
465 470 475 480

Cys Ser Glu Ser Arg Leu Glu Lys Ala Glu Leu Ser Leu Lys Asp Asp
485 490 495

Leu Thr Lys Leu Lys Ser Phe Thr Val Met Leu Val Asp Glu Arg Lys
500 505 510

Asn Met Met Glu Lys Ile Lys Gln Glu Glu Arg Lys Val Asp Gly Leu
515 520 525

Asn Lys Asn Phe Lys Val Glu Gln Gly Lys Val Met Asp Val Thr Glu

530

535

540

Lys Leu Ile Glu Glu Ser Lys Lys Leu Leu Lys Leu Lys Ser Glu Met

545

550

555

560

Glu Glu Lys Glu Tyr Ser Leu Thr Lys Glu Arg Asp Glu Leu Met Gly

565

570

575

Lys Leu Arg Ser Glu Glu Glu Arg Ser Cys Glu Leu Ser Cys Ser Val

580

585

590

Asp Leu Leu Lys Lys Arg Leu Asp Gly Ile Glu Glu Val Glu Arg Glu

595

600

605

Ile Asn Arg Gly Arg Ser Cys Lys Gly Ser Glu Phe Thr Cys Pro Glu

610

615

620

Asp Asn Lys Ile Arg Glu Leu Thr Leu Glu Ile Glu Arg Leu Lys Lys

625

630

635

640

Arg Leu Gln Gln Leu Glu Val Val Glu Gly Asp Leu Met Lys Thr Glu

645

650

655

Asp Glu Tyr Asp Gln Leu Glu Gln Lys Phe Arg Thr Glu Gln Asp Lys

660

665

670

Ala Asn Phe Leu Ser Gln Gln Leu Glu Glu Ile Lys His Gln Met Ala

675

680

685

Lys His Lys Ala Ile Glu Lys Gly Glu Ala Val Ser Gln Glu Ala Glu
690 695 700

Leu Arg His Arg Phe Arg Leu Glu Glu Ala Lys Ser Arg Asp Leu Gln
705 710 715 720

Ala Glu Val Gln Ala Leu Lys Glu Lys Ile His Glu Leu Met Asn Lys
725 730 735

Glu Asp Gln Leu Ser Gln Leu Gln Val Asp Tyr Ser Val Leu Gln Gln
740 745 750

Arg Phe Met Glu Glu Glu Thr Lys Asn Lys Asn Met Gly Arg Glu Val
755 760 765

Leu Asn Leu Thr Lys Glu Leu Glu Leu Ser Lys Arg Tyr Ser Arg Ala
770 775 780

Leu Arg Pro Ser Gly Asn Gly Arg Arg Met Val Asp Val Pro Val Ala
785 790 795 800

Ser Thr Gly Val Gln Thr Glu Ala Val Cys Gly Asp Ala Ala Glu Glu
805 810 815

Glu Thr Pro Ala Val Phe Ile Arg Lys Ser Phe Gln Glu Glu Asn His
820 825 830

Ile Met Ser Asn Leu Arg Gln Val Gly Leu Lys Lys Pro Met Glu Arg
835 840 845

Ser Ser Val Leu Asp Arg Tyr Pro Pro Ala Ala Asn Glu Leu Thr Met
850 855 860

Arg Lys Ser Trp Ile Pro Trp Met Arg Lys Arg Glu Asn Gly Pro Ser
865 870 875 880

Thr Pro Gln Glu Lys Gly Pro Arg Pro Asn Gln Gly Ala Gly His Pro
885 890 895

Gly Glu Leu Val Leu Ala Pro Lys Gln Gly Gln Pro Leu His Ile Arg
900 905 910

Val Thr Pro Asp His Glu Asn Ser Thr Ala Thr Leu Glu Ile Thr Ser
915 920 925

Pro Thr Ser Glu Glu Phe Phe Ser Ser Thr Thr Val Ile Pro Thr Leu
930 935 940

Gly Asn Gln Lys Pro Arg Ile Thr Ile Ile Pro Ser Pro Asn Val Met
945 950 955 960

Ser Gln Lys Pro Lys Ser Ala Asp Pro Thr Leu Gly Pro Glu Arg Ala
965 970 975

Met Ser Pro Val Thr Ile Thr Thr Ile Ser Arg Glu Lys Ser Pro Glu
980 985 990

Gly Gly Arg Ser Ala Phe Ala Asp Arg Pro Ala Ser Pro Ile Gln Ile

995	1000	1005
Met Thr Val Ser Thr Ser Ala Ala Pro Thr Glu Ile Ala Val Ser Pro		
1010	1015	1020
Glu Ser Gln Glu Val Pro Met Gly Arg Thr Ile Leu Lys Val Thr Pro		
1025	1030	1035
1040		
Glu Lys Gln Thr Val Pro Ala Pro Val Arg Lys Tyr Asn Ser Asn Ala		
1045	1050	1055
Asn Ile Ile Thr Thr Glu Asp Asn Lys Ile His Ile His Leu Gly Ser		
1060	1065	1070
Gln Phe Lys Arg Ser Pro Gly Pro Ala Ala Glu Gly Val Ser Pro Val		
1075	1080	1085
Ile Thr Val Arg Pro Val Asn Val Thr Ala Glu Lys Glu Val Ser Thr		
1090	1095	1100
Gly Thr Val Leu Arg Ser Pro Arg Asn His Leu Ser Ser Arg Pro Gly		
1105	1110	1115
1120		
Ala Ser Lys Val Thr Ser Thr Ile Thr Ile Thr Pro Val Thr Thr Ser		
1125	1130	1135
Ser Thr Arg Gly Thr Gln Ser Val Ser Gly Gln Asp Gly Ser Ser Gln		
1140	1145	1150

Arg Pro Thr Pro Thr Arg Ile Pro Met Ser Lys Gly Met Lys Ala Gly
1155 1160 1165

Lys Pro Val Val Ala Ala Ser Gly Ala Gly Asn Leu Thr Lys Phe Gln
1170 1175 1180

Pro Arg Ala Glu Thr Gln Ser Met Lys Ile Glu Leu Lys Lys Ser Ala
1185 1190 1195 1200

Ala Ser Ser Thr Ala Ser Leu Gly Gly Gly Lys Gly
1205 1210

<210> 3

<211> 3785

<212> DNA

<213> Rattus norvegicus

<220>

<221> CDS

<222> (237)..(3131)

<400> 3

cgacagggcc ggaatgtgcc tgттаатccc ctgtgaagta agaggttgag cagagcctgc 60

tgctgttgaa caaacttcag tacctcctta tttaaaaaaa aaaaagacct agaaacaaaa 120

ggttgaaaaa gctccttgaa caagaaaaag cttaccaagc ccgcaaagaa aaggaaaacg 180

ctaagcggct caacaaactt cgagatgagc ttgtgaagct caagtccttc gccctc atg 239

Met

1

ttg gtg gac gag agg cag atg cac atc gag caa ctg ggc ctg cag agt 287

Leu Val Asp Glu Arg Gln Met His Ile Glu Gln Leu Gly Leu Gln Ser

5

10

15

cag aaa gtc cag gac ctc act cag aag ctg agg gag gag gaa gaa aaa 335

Gln Lys Val Gln Asp Leu Thr Gln Lys Leu Arg Glu Glu Glu Glu Lys

20

25

30

ctc aaa gcg gtc act tac aaa tcc aag gaa gac cgc cag aag ctg ctc 383

Leu Lys Ala Val Thr Tyr Lys Ser Lys Glu Asp Arg Gln Lys Leu Leu

35

40

45

aag tta gaa gtg gac ttc gaa cac aag gcc tcg agg ttt tcc cag gag 431

Lys Leu Glu Val Asp Phe Glu His Lys Ala Ser Arg Phe Ser Gln Glu

50

55

60

65

cac gaa gag atg aac gcc aaa ttg gcg aat caa gaa tct cac aac cgg 479

His Glu Glu Met Asn Ala Lys Leu Ala Asn Gln Glu Ser His Asn Arg

70

75

80

caa ctt cga ctc aaa ctg gtt ggc tta tcg caa agg att gag gag ctg 527

Gln Leu Arg Leu Lys Leu Val Gly Leu Ser Gln Arg Ile Glu Glu Leu

85

90

95

gaa gag acc aat aaa agc ctt cag aag gca gag gaa gag ctc cag gag 575

Glu Glu Thr Asn Lys Ser Leu Gln Lys Ala Glu Glu Glu Leu Gln Glu

100

105

110

ctg aga gag aaa att gcc aaa ggg gaa tgt gga aac tcc agt ctc atg 623

Leu Arg Glu Lys Ile Ala Lys Gly Glu Cys Gly Asn Ser Ser Leu Met

115

120

125

gcg gaa gtg gag agt ctg cgc aag cgc gtg ctt gag atg gag ggc aag 671

Ala Glu Val Glu Ser Leu Arg Lys Arg Val Leu Glu Met Glu Gly Lys

130

135

140

145

gat gaa gag atc acg aag acc gag gcc cag tgc cgg gag ctg aag aag 719

Asp Glu Glu Ile Thr Lys Thr Glu Ala Gln Cys Arg Glu Leu Lys Lys

150

155

160

aag ctc caa gag gaa gaa cac cac agc aag gaa ctt aga cta gaa gtg 767

Lys Leu Gln Glu Glu Glu His His Ser Lys Glu Leu Arg Leu Glu Val

165

170

175

gag aag ctg cag aag agg atg tct gag ctg gag aag ctg gag gaa gcg 815

Glu Lys Leu Gln Lys Arg Met Ser Glu Leu Glu Lys Leu Glu Glu Ala

180

185

190

ttc agc cgg agt aag tcg gaa tgc acc cag ctc cat ctg aac ctg gag 863

Phe Ser Arg Ser Lys Ser Glu Cys Thr Gln Leu His Leu Asn Leu Glu

195

200

205

aag gag aag aac cta acc aaa gac ctg ctg aac gag ctg gag gtg gtc 911

Lys Glu Lys Asn Leu Thr Lys Asp Leu Leu Asn Glu Leu Glu Val Val
 210 215 220 225

aag agt cga gtt aaa gaa ctc gaa tgc tcc gag agt aga ctg gag aag 959
 Lys Ser Arg Val Lys Glu Leu Glu Cys Ser Glu Ser Arg Leu Glu Lys
 230 235 240

gcc gag tta agc ctc aaa gat gac ctt aca aag ctg aag tcc ttc act 1007
 Ala Glu Leu Ser Leu Lys Asp Asp Leu Thr Lys Leu Lys Ser Phe Thr
 245 250 255

gtg atg ctg gtg gat gag agg aaa aat atg atg gag aaa ata aag caa 1055
 Val Met Leu Val Asp Glu Arg Lys Asn Met Met Glu Lys Ile Lys Gln
 260 265 270

gaa gag agg aaa gtg gat ggg ttg aat aaa aac ttt aag gtg gag cag 1103
 Glu Glu Arg Lys Val Asp Gly Leu Asn Lys Asn Phe Lys Val Glu Gln
 275 280 285

gga aaa gtc atg gat gtg acg gaa aag cta atc gag gaa agc aag aag 1151
 Gly Lys Val Met Asp Val Thr Glu Lys Leu Ile Glu Glu Ser Lys Lys
 290 295 300 305

ctt tta aaa ctc aaa tct gaa atg gag gaa aag gag tac agt ctg aca 1199
 Leu Leu Lys Leu Lys Ser Glu Met Glu Glu Lys Glu Tyr Ser Leu Thr
 310 315 320

aag gag agg gat gag ctg atg ggt aaa ctg agg agc gaa gaa gaa agg 1247
 Lys Glu Arg Asp Glu Leu Met Gly Lys Leu Arg Ser Glu Glu Glu Arg

325	330	335	
tcc tgt gaa ctg agc tgc agt gta gac tta cta aag aag cgg ctt gat	1295		
Ser Cys Glu Leu Ser Cys Ser Val Asp Leu Leu Lys Lys Arg Leu Asp			
340	345	350	
ggc ata gag gag gta gaa agg gaa ata aac cga ggt agg tcg tgc aag	1343		
Gly Ile Glu Glu Val Glu Arg Glu Ile Asn Arg Gly Arg Ser Cys Lys			
355	360	365	
ggg tct gag ttc acc tgc ccg gaa gac aat aag atc aga gaa cta acg	1391		
Gly Ser Glu Phe Thr Cys Pro Glu Asp Asn Lys Ile Arg Glu Leu Thr			
370	375	380	385
ctt gaa atc gag aga ctg aag aaa cgg ctc cag cag ttg gag gtg gtg	1439		
Leu Glu Ile Glu Arg Leu Lys Lys Arg Leu Gln Gln Leu Glu Val Val			
390	395	400	
gag ggg gac ttg atg aag acc gag gac gaa tat gac cag ttg gag cag	1487		
Glu Gly Asp Leu Met Lys Thr Glu Asp Glu Tyr Asp Gln Leu Glu Gln			
405	410	415	
aag ttc aga acc gag cag gat aag gca aac ttc ctc tcc cag cag ctc	1535		
Lys Phe Arg Thr Glu Gln Asp Lys Ala Asn Phe Leu Ser Gln Gln Leu			
420	425	430	
gag gaa atc aaa cac caa atg gcc aag cac aaa gcc ata gag aaa ggg	1583		
Glu Glu Ile Lys His Gln Met Ala Lys His Lys Ala Ile Glu Lys Gly			
435	440	445	

gag gcc gtg agc cag gaa gcc gaa ctg cga cac agg ttt cgg ctg gag 1631

Glu Ala Val Ser Gln Glu Ala Glu Leu Arg His Arg Phe Arg Leu Glu

450 455 460 465

gag gct aaa agt cgt gat tta cag gcc gag gtg cag gct ctc aag gag 1679

Glu Ala Lys Ser Arg Asp Leu Gln Ala Glu Val Gln Ala Leu Lys Glu

470 475 480

aag atc cac gag ctg atg aac aag gaa gac cag ctg tct cag ctc caa 1727

Lys Ile His Glu Leu Met Asn Lys Glu Asp Gln Leu Ser Gln Leu Gln

485 490 495

gtc gac tat tcg gtc ctt cag caa aga ttt atg gaa gaa gaa act aag 1775

Val Asp Tyr Ser Val Leu Gln Gln Arg Phe Met Glu Glu Glu Thr Lys

500 505 510

aac aag aac atg ggg agg gag gtc ctc aat ctg acc aag gag cta gag 1823

Asn Lys Asn Met Gly Arg Glu Val Leu Asn Leu Thr Lys Glu Leu Glu

515 520 525

ctt tcc aag cgc tac agc cga gct ctc agg ccg agt ggg aac ggc cga 1871

Leu Ser Lys Arg Tyr Ser Arg Ala Leu Arg Pro Ser Gly Asn Gly Arg

530 535 540 545

agg atg gtg gac gtg cct gtg gcc tcc act ggg gtg cag acc gag gcg 1919

Arg Met Val Asp Val Pro Val Ala Ser Thr Gly Val Gln Thr Glu Ala

550 555 560

gtg tgc ggg gat gct gcg gag gag gag acc ccg gct gtg ttc att cgc 1967
Val Cys Gly Asp Ala Ala Glu Glu Glu Thr Pro Ala Val Phe Ile Arg
565 570 575

aaa tcc ttc cag gag gaa aat cac atc atg agt aat ctt cga cag gta 2015
Lys Ser Phe Gln Glu Glu Asn His Ile Met Ser Asn Leu Arg Gln Val
580 585 590

ggc ctg aag aaa ccc atg gaa cgg tcc tcg gtc ctc gac agg tat ccc 2063
Gly Leu Lys Lys Pro Met Glu Arg Ser Ser Val Leu Asp Arg Tyr Pro
595 600 605

cca gca gcg aat gag ctc acc atg agg aag tct tgg att cct tgg atg 2111
Pro Ala Ala Asn Glu Leu Thr Met Arg Lys Ser Trp Ile Pro Trp Met
610 615 620 625

aga aaa aga gaa aac ggt cct tcc act ccg cag gag aaa ggg ccc agg 2159
Arg Lys Arg Glu Asn Gly Pro Ser Thr Pro Gln Glu Lys Gly Pro Arg
630 635 640

cca aac cag ggt gca ggg cac ccc ggg gag ctg gtc cta gca cca aag 2207
Pro Asn Gln Gly Ala Gly His Pro Gly Glu Leu Val Leu Ala Pro Lys
645 650 655

cag ggc cag ccc cta cac atc cgt gtg aca cca gat cat gag aac agc 2255
Gln Gly Gln Pro Leu His Ile Arg Val Thr Pro Asp His Glu Asn Ser
660 665 670

act gcc acc ctg gag atc aca agc ccc aca tct gaa gag ttt ttc tct 2303

Thr Ala Thr Leu Glu Ile Thr Ser Pro Thr Ser Glu Glu Phe Phe Ser
 675 680 685

agt acc acc gtc att cct acc tta ggc aac cag aaa cca aga ata acc 2351
 Ser Thr Thr Val Ile Pro Thr Leu Gly Asn Gln Lys Pro Arg Ile Thr
 690 695 700 705

att att cca tca ccc aat gtc atg tcg caa aag ccc aaa agt gca gat 2399
 Ile Ile Pro Ser Pro Asn Val Met Ser Gln Lys Pro Lys Ser Ala Asp
 710 715 720

cct act ctc ggc cca gaa cga gcc atg tcc cct gtc acg att act act 2447
 Pro Thr Leu Gly Pro Glu Arg Ala Met Ser Pro Val Thr Ile Thr Thr
 725 730 735

att tcc aga gag aag agc ccg gaa ggt gga agg agc gcc ttt gcc gac 2495
 Ile Ser Arg Glu Lys Ser Pro Glu Gly Gly Arg Ser Ala Phe Ala Asp
 740 745 750

agg cct gca tcc ccc atc caa atc atg acg gtg tca aca tct gca gct 2543
 Arg Pro Ala Ser Pro Ile Gln Ile Met Thr Val Ser Thr Ser Ala Ala
 755 760 765

ccc act gaa atc gct gtc tct cct gaa tct cag gaa gtg cct atg gga 2591
 Pro Thr Glu Ile Ala Val Ser Pro Glu Ser Gln Glu Val Pro Met Gly
 770 775 780 785

agg act atc ctc aaa gtc acc ccg gaa aaa caa act gtt cca gcc ccc 2639
 Arg Thr Ile Leu Lys Val Thr Pro Glu Lys Gln Thr Val Pro Ala Pro

790	795	800	
gtg cgg aag tac aac tcc aat gct aat atc atc acc acg gaa gac aat			2687
Val Arg Lys Tyr Asn Ser Asn Ala Asn Ile Ile Thr Thr Glu Asp Asn			
805	810	815	
aaa att cac att cac ctg ggt tct cag ttt aag cga tct cct ggg cct			2735
Lys Ile His Ile His Leu Gly Ser Gln Phe Lys Arg Ser Pro Gly Pro			
820	825	830	
gcc gct gaa ggc gtg agc cca gtt atc acc gtc cgg cct gtc aac gtg			2783
Ala Ala Glu Gly Val Ser Pro Val Ile Thr Val Arg Pro Val Asn Val			
835	840	845	
aca gcg gag aag gag gtt tct aca ggc aca gtc ctt cgc tct ccc agg			2831
Thr Ala Glu Lys Glu Val Ser Thr Gly Thr Val Leu Arg Ser Pro Arg			
850	855	860	865
aac cac ctc tct tca aga ccc ggt gct agc aaa gtg acc agc act ata			2879
Asn His Leu Ser Ser Arg Pro Gly Ala Ser Lys Val Thr Ser Thr Ile			
870	875	880	
act ata acc ccg gtc aca acg tca tcc aca cga gga acc caa tca gtg			2927
Thr Ile Thr Pro Val Thr Thr Ser Ser Thr Arg Gly Thr Gln Ser Val			
885	890	895	
tca gga caa gat ggg tca tct cag cgg cct acc ccc acc cgc att cct			2975
Ser Gly Gln Asp Gly Ser Ser Gln Arg Pro Thr Pro Thr Arg Ile Pro			
900	905	910	

atg tca aaa ggt atg aaa gct gga aag cca gta gtg gca gcc tca gga 3023
Met Ser Lys Gly Met Lys Ala Gly Lys Pro Val Val Ala Ala Ser Gly

915

920

925

gca gga aat ctg acc aaa ttc cag cct cga gct gag act cag tct atg 3071
Ala Gly Asn Leu Thr Lys Phe Gln Pro Arg Ala Glu Thr Gln Ser Met

930

935

940

945

aaa ata gag ctg aag aaa tct gca gcc agc agc act gcc tct ctt gga 3119
Lys Ile Glu Leu Lys Lys Ser Ala Ala Ser Ser Thr Ala Ser Leu Gly

950

955

960

ggg ggg aag ggc tgagggcagt ggctaagggg gtatgttgta aggatgctac 3171
Gly Gly Lys Gly

965

tgctgcagtg gaaacaaacc ttctctgtg ccaacccttt ccttgtagta ctaatttaag 3231

ttttaaatat ctgttttata aaataaccat ttaatagcca tgcaccccc tccattttg 3291

tgcatctgtt tcaatgcagg ggaatagaat taattagcag aatttctgtt tgctgaatgt 3351

tctgttgaag atgttggtcc agttcagttt tacttctagc atgtggcccc attcaaggta 3411

gctcacgagt tgtgaagccc tcaatatcgt caccggagag atttgaggac cacattacat 3471

atgctcccaa aggctggctc ccaattttcc taattgtaag ccaactttaa tagactcagt 3531

tctgtgattt ttttttccaa aaaaaaata ttttgaaata ggacagagtt taacagttgt 3591

cattttgcac tatcaagcca tgagtttgat atatgggtta taagaaaaga atactttcag 3651

agctatcaca gggctctctaa acttttggaa aaacaaaagc ccctaatatg acctcaggaa 3711

acaatttgaa catgaaataa aatggaaatg aactgtggaa tcttaaaaaa aaaaaaaaaa 3771

aaaaaaaaaa aaaa 3785

<210> 4

<211> 965

<212> PRT

<213> Rattus norvegicus

<400> 4

Met Leu Val Asp Glu Arg Gln Met His Ile Glu Gln Leu Gly Leu Gln

1 5 10 15

Ser Gln Lys Val Gln Asp Leu Thr Gln Lys Leu Arg Glu Glu Glu Glu

20 25 30

Lys Leu Lys Ala Val Thr Tyr Lys Ser Lys Glu Asp Arg Gln Lys Leu

35 40 45

Leu Lys Leu Glu Val Asp Phe Glu His Lys Ala Ser Arg Phe Ser Gln

50 55 60

Glu His Glu Glu Met Asn Ala Lys Leu Ala Asn Gln Glu Ser His Asn
65 70 75 80

Arg Gln Leu Arg Leu Lys Leu Val Gly Leu Ser Gln Arg Ile Glu Glu
85 90 95

Leu Glu Glu Thr Asn Lys Ser Leu Gln Lys Ala Glu Glu Glu Leu Gln
100 105 110

Glu Leu Arg Glu Lys Ile Ala Lys Gly Glu Cys Gly Asn Ser Ser Leu
115 120 125

Met Ala Glu Val Glu Ser Leu Arg Lys Arg Val Leu Glu Met Glu Gly
130 135 140

Lys Asp Glu Glu Ile Thr Lys Thr Glu Ala Gln Cys Arg Glu Leu Lys
145 150 155 160

Lys Lys Leu Gln Glu Glu Glu His His Ser Lys Glu Leu Arg Leu Glu
165 170 175

Val Glu Lys Leu Gln Lys Arg Met Ser Glu Leu Glu Lys Leu Glu Glu
180 185 190

Ala Phe Ser Arg Ser Lys Ser Glu Cys Thr Gln Leu His Leu Asn Leu
195 200 205

Glu Lys Glu Lys Asn Leu Thr Lys Asp Leu Leu Asn Glu Leu Glu Val
210 215 220

Val Lys Ser Arg Val Lys Glu Leu Glu Cys Ser Glu Ser Arg Leu Glu
225 230 235 240

Lys Ala Glu Leu Ser Leu Lys Asp Asp Leu Thr Lys Leu Lys Ser Phe
245 250 255

Thr Val Met Leu Val Asp Glu Arg Lys Asn Met Met Glu Lys Ile Lys
260 265 270

Gln Glu Glu Arg Lys Val Asp Gly Leu Asn Lys Asn Phe Lys Val Glu
275 280 285

Gln Gly Lys Val Met Asp Val Thr Glu Lys Leu Ile Glu Glu Ser Lys
290 295 300

Lys Leu Leu Lys Leu Lys Ser Glu Met Glu Glu Lys Glu Tyr Ser Leu
305 310 315 320

Thr Lys Glu Arg Asp Glu Leu Met Gly Lys Leu Arg Ser Glu Glu Glu
325 330 335

Arg Ser Cys Glu Leu Ser Cys Ser Val Asp Leu Leu Lys Lys Arg Leu
340 345 350

Asp Gly Ile Glu Glu Val Glu Arg Glu Ile Asn Arg Gly Arg Ser Cys
355 360 365

Lys Gly Ser Glu Phe Thr Cys Pro Glu Asp Asn Lys Ile Arg Glu Leu

370	375	380	
Thr Leu Glu Ile Glu Arg Leu Lys Lys Arg Leu Gln Gln Leu Glu Val			
385	390	395	400
Val Glu Gly Asp Leu Met Lys Thr Glu Asp Glu Tyr Asp Gln Leu Glu			
405	410	415	
Gln Lys Phe Arg Thr Glu Gln Asp Lys Ala Asn Phe Leu Ser Gln Gln			
420	425	430	
Leu Glu Glu Ile Lys His Gln Met Ala Lys His Lys Ala Ile Glu Lys			
435	440	445	
Gly Glu Ala Val Ser Gln Glu Ala Glu Leu Arg His Arg Phe Arg Leu			
450	455	460	
Glu Glu Ala Lys Ser Arg Asp Leu Gln Ala Glu Val Gln Ala Leu Lys			
465	470	475	480
Glu Lys Ile His Glu Leu Met Asn Lys Glu Asp Gln Leu Ser Gln Leu			
485	490	495	
Gln Val Asp Tyr Ser Val Leu Gln Gln Arg Phe Met Glu Glu Glu Thr			
500	505	510	
Lys Asn Lys Asn Met Gly Arg Glu Val Leu Asn Leu Thr Lys Glu Leu			
515	520	525	

Glu Leu Ser Lys Arg Tyr Ser Arg Ala Leu Arg Pro Ser Gly Asn Gly
530 535 540

Arg Arg Met Val Asp Val Pro Val Ala Ser Thr Gly Val Gln Thr Glu
545 550 555 560

Ala Val Cys Gly Asp Ala Ala Glu Glu Glu Thr Pro Ala Val Phe Ile
565 570 575

Arg Lys Ser Phe Gln Glu Glu Asn His Ile Met Ser Asn Leu Arg Gln
580 585 590

Val Gly Leu Lys Lys Pro Met Glu Arg Ser Ser Val Leu Asp Arg Tyr
595 600 605

Pro Pro Ala Ala Asn Glu Leu Thr Met Arg Lys Ser Trp Ile Pro Trp
610 615 620

Met Arg Lys Arg Glu Asn Gly Pro Ser Thr Pro Gln Glu Lys Gly Pro
625 630 635 640

Arg Pro Asn Gln Gly Ala Gly His Pro Gly Glu Leu Val Leu Ala Pro
645 650 655

Lys Gln Gly Gln Pro Leu His Ile Arg Val Thr Pro Asp His Glu Asn
660 665 670

Ser Thr Ala Thr Leu Glu Ile Thr Ser Pro Thr Ser Glu Glu Phe Phe
675 680 685

Ser Ser Thr Thr Val Ile Pro Thr Leu Gly Asn Gln Lys Pro Arg Ile
690 695 700

Thr Ile Ile Pro Ser Pro Asn Val Met Ser Gln Lys Pro Lys Ser Ala
705 710 715 720

Asp Pro Thr Leu Gly Pro Glu Arg Ala Met Ser Pro Val Thr Ile Thr
725 730 735

Thr Ile Ser Arg Glu Lys Ser Pro Glu Gly Gly Arg Ser Ala Phe Ala
740 745 750

Asp Arg Pro Ala Ser Pro Ile Gln Ile Met Thr Val Ser Thr Ser Ala
755 760 765

Ala Pro Thr Glu Ile Ala Val Ser Pro Glu Ser Gln Glu Val Pro Met
770 775 780

Gly Arg Thr Ile Leu Lys Val Thr Pro Glu Lys Gln Thr Val Pro Ala
785 790 795 800

Pro Val Arg Lys Tyr Asn Ser Asn Ala Asn Ile Ile Thr Thr Glu Asp
805 810 815

Asn Lys Ile His Ile His Leu Gly Ser Gln Phe Lys Arg Ser Pro Gly
820 825 830

Pro Ala Ala Glu Gly Val Ser Pro Val Ile Thr Val Arg Pro Val Asn

[illegible]

【図面の簡単な説明】

【図 1】

本発明の L - F I L I P c D N A 又は S - F I L I P c D N A の局在化、及び F I L I P s の構造を示す図である。

【図 2】

本発明の L - F I L I P 又は S - F I L I P とアクチン結合タンパク質であるフィラミン 1 との相互作用に関する結果を示す図である。

【図 3】

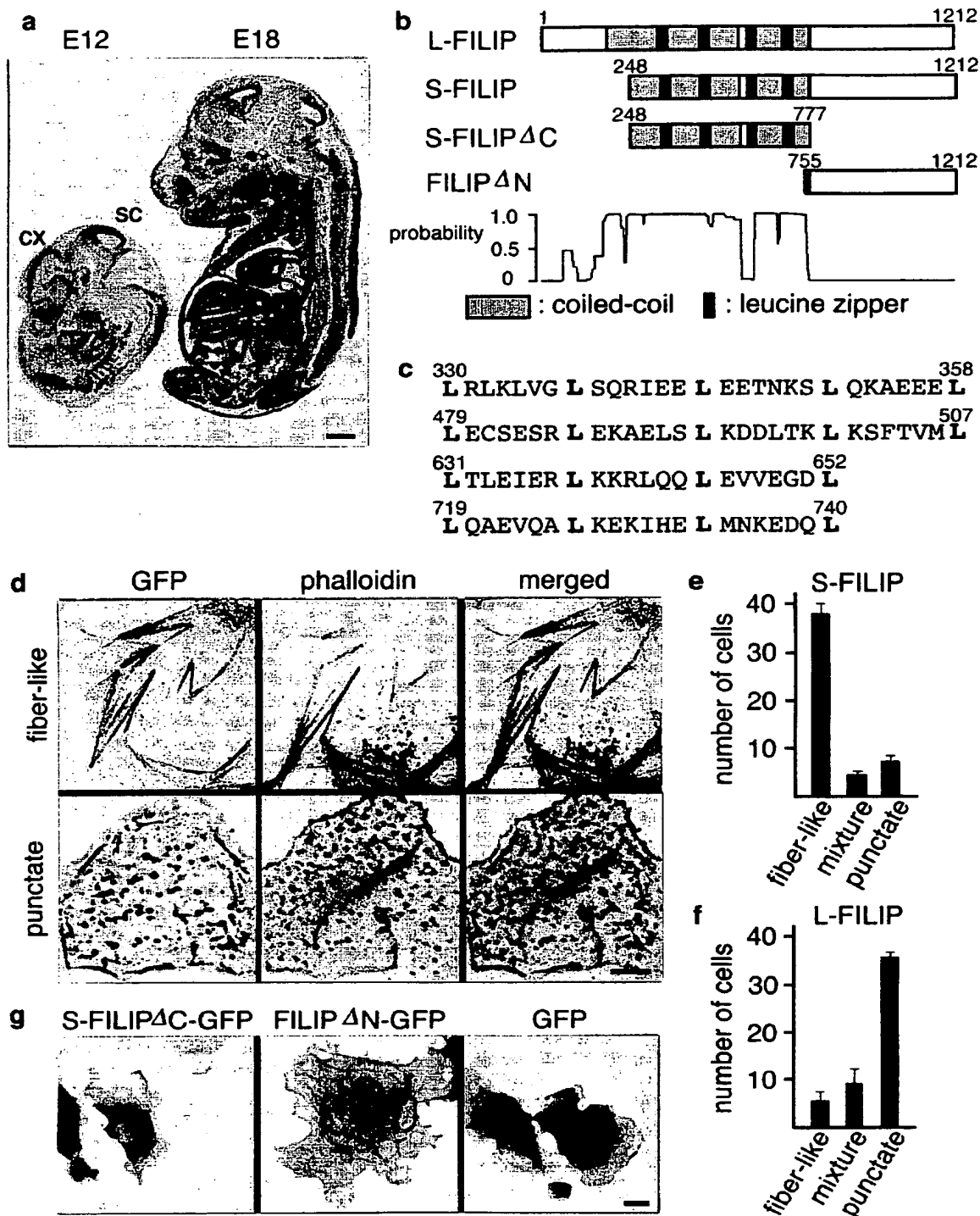
本発明の L - F I L I P 又は S - F I L I P によるフィラミン 1 の分解と、かかる分解による細胞移動能の低下に関する結果を示す図である。

【図 4】

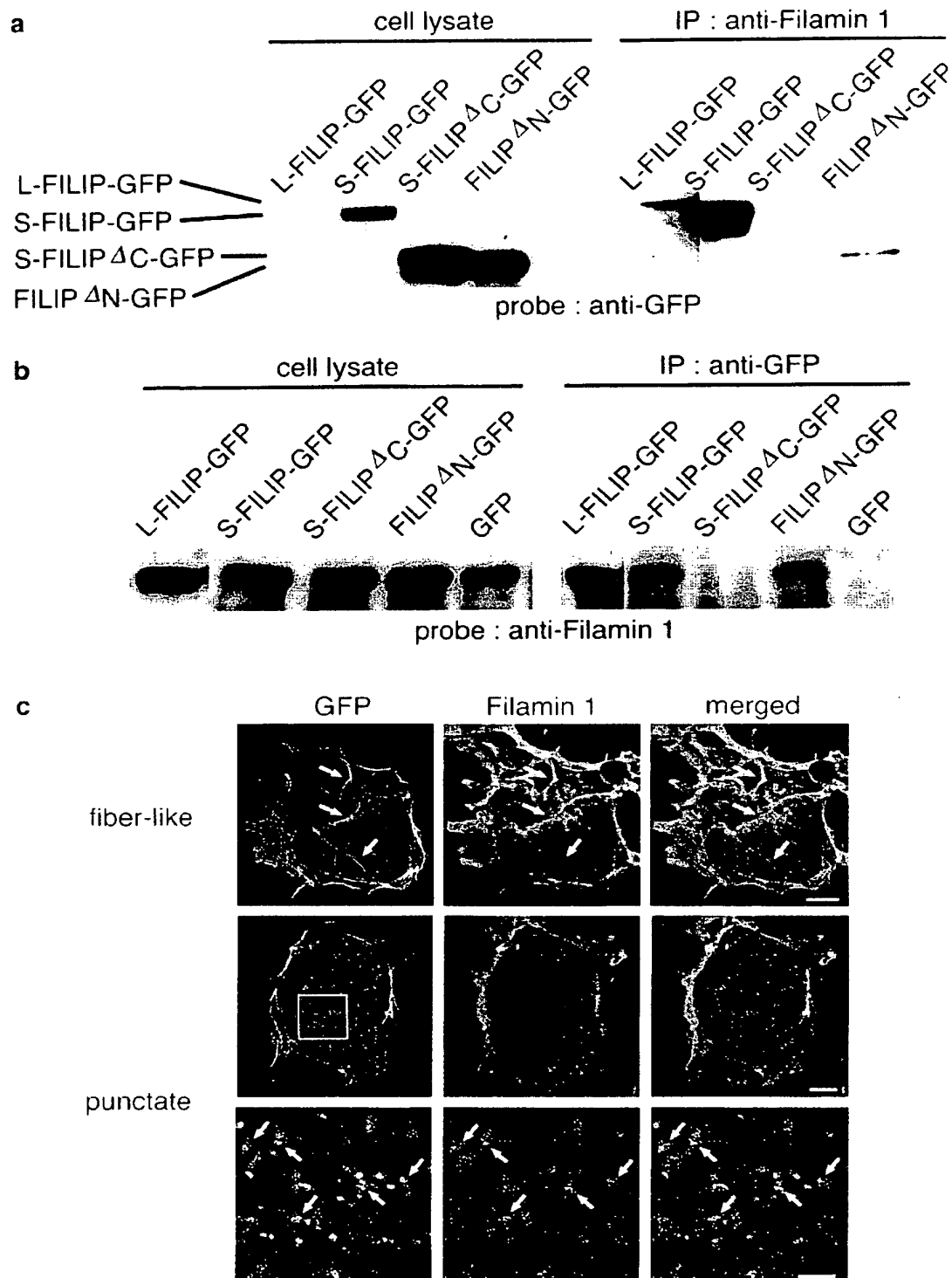
新皮質の形成における L - F I L I P 又は S - F I L I P による脳室帯からの細胞移動の調節に関する結果を示す図である。

【書類名】 図面

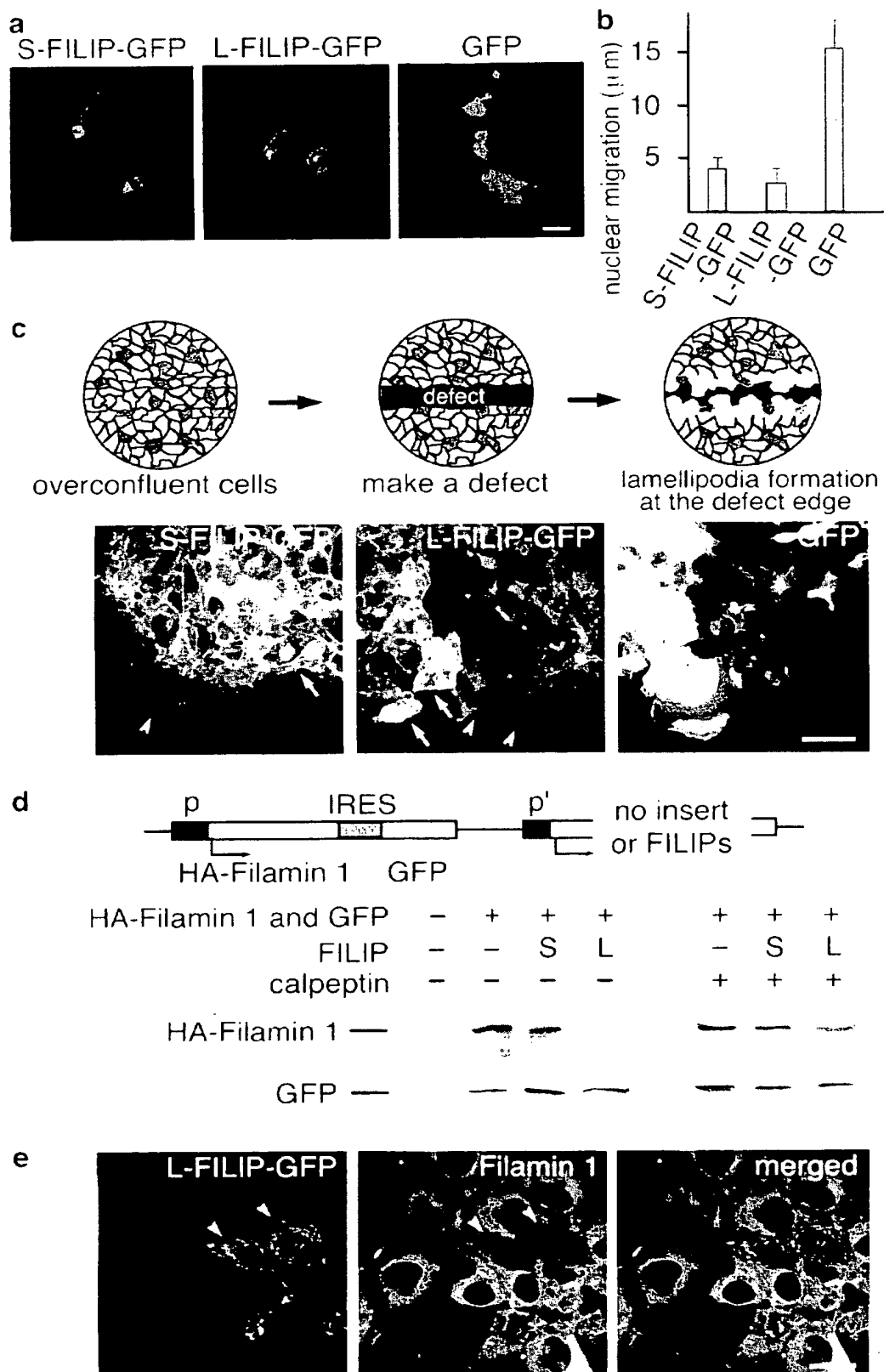
【図 1】



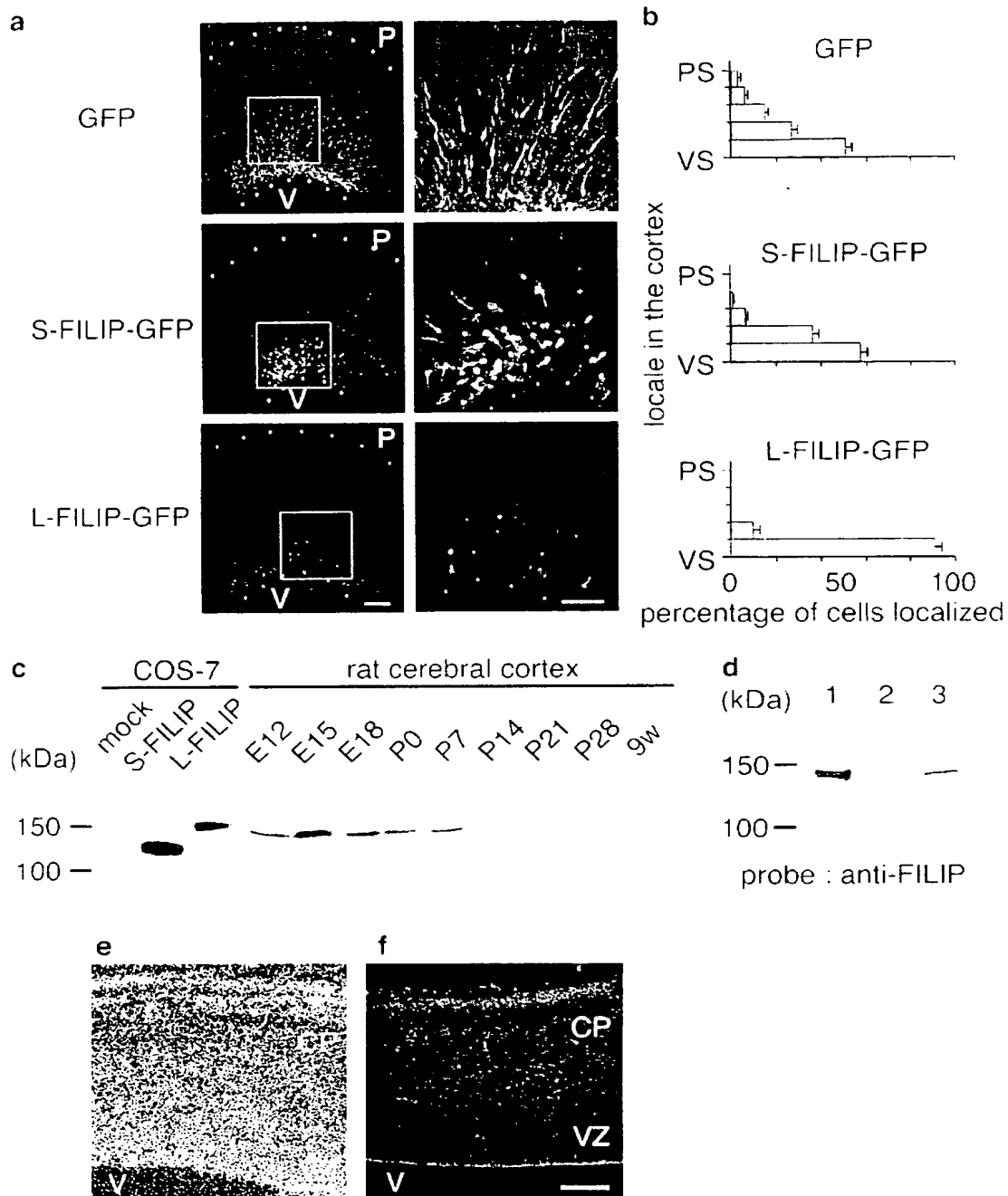
【図 2】



【図 3】



【図 4】



【書類名】 要約書

【要約】

【課題】 神経細胞等の細胞移動調節機能及び細胞死調節機能を有するタンパク質及びかかるタンパク質をコードするDNAに関し、特にアクチン結合タンパク質と相互作用し、かかるアクチン結合タンパク質の分解を促進することにより、神経細胞等の細胞移動能及び細胞死を調節するタンパク質及びそれらをコードするDNA等を用いた、細胞移動及び／又は細胞死の制御や、細胞移動調節及び／又は細胞死調節機能を促進又は抑制する物質等のスクリーニング方法などを提供すること。

【解決手段】 アクチン結合タンパク質であるフィラミン (F i l a m i n) 1 と相互作用し、かかるフィラミン 1 の分解を促進することにより細胞移動を負に調節し、また、細胞死の調節に関与する S - F I L I P 及び L - F I L I P c DNA を単離し、全塩基配列及びアミノ酸配列を決定した。

特願 2 0 0 1 - 2 5 6 9 1 0

出 願 人 履 歴 情 報

識別番号 [3 9 6 0 2 0 8 0 0]

1. 変更年月日	1 9 9 8 年 2 月 2 4 日
[変更理由]	名称変更
住 所	埼玉県川口市本町 4 丁目 1 番 8 号
氏 名	科学技術振興事業団

**This Page is Inserted by IFW Indexing and Scanning
Operations and is not part of the Official Record**

BEST AVAILABLE IMAGES

Defective images within this document are accurate representations of the original documents submitted by the applicant.

Defects in the images include but are not limited to the items checked:

- ☐ BLACK BORDERS
- ☐ IMAGE CUT OFF AT TOP, BOTTOM OR SIDES
- ☐ FADED TEXT OR DRAWING
- ☐ BLURRED OR ILLEGIBLE TEXT OR DRAWING
- ☐ SKEWED/SLANTED IMAGES
- ☒ COLOR OR BLACK AND WHITE PHOTOGRAPHS
- ☒ GRAY SCALE DOCUMENTS
- ☒ LINES OR MARKS ON ORIGINAL DOCUMENT
- ☐ REFERENCE(S) OR EXHIBIT(S) SUBMITTED ARE POOR QUALITY
- ☐ OTHER: _____

IMAGES ARE BEST AVAILABLE COPY.

As rescanning these documents will not correct the image problems checked, please do not report these problems to the IFW Image Problem Mailbox.